

# A Química na Produção Vegetal

E D I T O R E S

■ Everaldo Antônio Lopes ■ Alberto  
Carvalho Filho ■ Danúbia Aparecida  
Costa Nobre ■ Fabrícia Queiroz Mendes  
■ Flávio Lemes Fernandes ■ Frederico  
Garcia Pinto ■ Geraldo Humberto Silva  
■ Jairo Tronto ■ Liliane Evangelista Visôto  
■ Pablo Damasceno Borges ■ Pedro Ivo  
Vieira Good God ■ Renato Adriane Alves  
Ruas ■ Roberto Ferreira Novais

## Organização



## Patrocinadores



**Dow AgroSciences**



# A Química na Produção Vegetal

## EDITORES

**Everaldo Antônio Lopes**

**Alberto Carvalho Filho**

**Danúbia Aparecida Costa Nobre**

**Fabília Queiroz Mendes**

**Flávio Lemes Fernandes**

**Frederico Garcia Pinto**

**Geraldo Humberto Silva**

**Jairo Tronto**

**Liliane Evangelista Visôto**

**Pablo Damasceno Borges**

**Pedro Ivo Vieira Good God**

**Renato Adriane Alves Ruas**

**Roberto Ferreira Novais**

© 2017 Direitos de edição reservados aos editores. Não é permitida a reprodução total ou parcial deste livro sem a autorização expressa dos editores.

Os capítulos apresentados nessa edição são de inteira responsabilidade dos respectivos autores e não implicam na sua recomendação por parte dos editores.

Capa: Antônio Sérgio de Souza

Diagramação: Antônio Sérgio de Souza

Foto aérea com drone: Alexandre Fotografias

ISBN: 978-85-93848-01-8

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca da UFV Campus Rio Paranaíba**

Q6  
2017

A química na produção vegetal / Everaldo Antônio Lopes...[*et al*].  
(Editores) - Rio Paranaíba, MG: Dos Autores, 2017.  
399 p. : il. (algumas color.).

1. Agronomia. 2. Química. 3. Nanotecnologia.  
I. Lopes, Everaldo Antônio. II. Título.

CDD 22. ed. 540

## AGRADECIMENTOS

*À Universidade Federal de Viçosa, à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFV, à Direção Geral e de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus de Rio Paranaíba, ao Instituto de Ciências Agrárias, à Rede Mineira de Química e aos cursos de Mestrado Acadêmico em Agronomia - Produção Vegetal e em Química, pelo valioso apoio.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Arthur Bernardes (FUNARBE), ao Grupo Tsuge, à Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP) e à Dow Brasil, pelo apoio financeiro.*

*Aos autores dos capítulos, pela dedicação e pelo fornecimento da riquíssima matéria-prima usada para a conclusão deste livro.*

*Ao Prof. Willian Rodrigues Macedo, coordenador do Mestrado Acadêmico em Agronomia – Produção Vegetal, pelo excelente trabalho à frente da organização do I Simpósio da Pós-Graduação da UFV – Campus Rio Paranaíba.*

*Aos discentes e docentes dos cursos de Mestrado Acadêmico em Agronomia – Produção Vegetal e de Química, pela colaboração na organização, realização e ações científicas relacionadas ao simpósio.*

*As senhoritas Sinara Guimarães, Lais Barbosa Vieira e Danúbia Aparecida da Costa Nobre, pela dedicação às várias atividades do simpósio.*

*À Crislene Silva de Sousa – Coordenadora da Biblioteca do Campus Rio Paranaíba, pelo auxílio no preparo da ficha catalográfica e pedido do ISBN do livro.*

*Ao Antônio Sérgio de Souza, pelo trabalho de diagramação e preparo da capa desta obra.*

## APRESENTAÇÃO

A Química é uma ciência fundamental para o avanço da Agronomia em inúmeras áreas de conhecimento, como, por exemplo, Fertilidade do solo, Fitossanidade, Tecnologia de Alimentos, Bioquímica e Genética. Com a evolução da nanotecnologia, da biologia molecular e de diversos métodos analíticos, essa importância torna-se ainda mais evidente. Em 2017, o Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba realizou o III Simpósio do Mestrado Acadêmico em conjunto com o Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química (UFV – *Campus* Rio Paranaíba). Essa iniciativa resultou no I Simpósio da Pós-Graduação da UFV – *Campus* Rio Paranaíba, com o tema “Química Aplicada à Produção Vegetal”. A multidisciplinaridade do evento culminou em rico compartilhamento de conhecimentos e vivências. Com o objetivo de documentar parte dessa experiência, editamos este livro. Nesta obra, o leitor encontrará capítulos escritos por alguns palestrantes do simpósio, além de contribuições de docentes e discentes de Agronomia – Produção Vegetal e Química. Boa leitura!

OS EDITORES

## SUMÁRIO

- Filmes e revestimentos biopoliméricos de liberação controlada de compostos ativos na agricultura ..... 8
- Bioensaios para a seleção de metabólitos secundários de plantas ativos contra insetos ... 50
- Identificação de Compostos Bioativos ..... 87
- Nanotecnologia em extratos e óleos essenciais de plantas: Uma visão sobre sua ação nos insetos ..... 113
- Inibidores de proteases no controle de insetos-praga ..... 155
- Defesa química de plantas, artrópodes herbívoros e inimigos naturais: estratégias para a sobrevivência..... 206
- Substâncias de origem vegetal e seu potencial para controlar fitonematoides ..... 227
- Metodologias para caracterização química do tomate visando à aplicação no melhoramento ..... 264
- Deriva em pulverizações hidráulicas de agrotóxicos..... 282
- Acelerando empresas de tecnologia (Startups) em Minas Gerais..... 301
- Métodos de análise e comportamento de herbicidas no solo ..... 339







CAPÍTULO

# 1

## FILMES E REVESTIMENTOS BIOPOLIMÉRICOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE COMPOSTOS ATIVOS NA AGRICULTURA

**Allan Robledo Fialho e Moraes** <sup>(1)</sup>

**Hugo Marcus Fialho e Moraes** <sup>(2)</sup>

**Níwton Castro Moraes** <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: allan.moraes@ufv.br. <sup>(2)</sup> Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: mfm.hugo@yahoo.com.br. <sup>(3)</sup> Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SEAPA de MG e EMATER, MG, Brasil. E-mail: niwton.moraes@agricultura.mg.gov.br.

### *Introdução*

A utilização de materiais poliméricos tem crescido continuamente nos mais variados segmentos, seja por meio da substituição gradativa de materiais mais antigos ou produção de novos materiais para aplicações específicas. Isto se deve, principalmente, às suas propriedades únicas e ao baixo custo. Além disso, possuem baixa densidade e processamento econômico sendo adequados para produção em larga escala.

Esses materiais plásticos são compostos por polímeros, que por sua vez são definidos como macromoléculas formadas por repetidas unidades denominadas de monômeros, unidas entre si por meio de ligações químicas, num processo denominado de polimerização.

Devido ao elevado número de tipos de monômeros e suas origens, formas com que podem se combinar, tamanho das cadeias poliméricas e arranjos estruturais que podem apresentar, os polímeros podem ser classificados de diversas formas, levando-se em consideração diferentes critérios de classificação.

### *Classificação dos polímeros quanto à origem e biodegradabilidade*

Devido à elevada complexidade e variedade dos materiais plásticos, estes podem ser classificados de diversas formas. Levando-se em consideração como critério de classificação sua origem, isto é, se provenientes de fontes renováveis ou não, e sua biodegradabilidade, ou seja, se biodegradáveis ou não, podemos dividi-los em quatro classes:

I. Polímeros provenientes de fontes não renováveis e não biodegradáveis: a maioria dos materiais plásticos utilizados atualmente é proveniente do petróleo ou do gás liquefeito do petróleo (GLP), uma fonte fóssil, e portanto, não renovável e poluidora. Além disso, em sua maioria, esses materiais são não biodegradáveis.

Portanto, sob o ponto de vista ambiental, estes polímeros representam a classe menos "amigável", uma vez que por razões técnicas ou econômicas, geralmente não são reciclados, levando ao seu acúmulo no meio ambiente, como em solos, aterros, lixões, oceanos, etc.

Os principais representantes comerciais dessa classe são: polietileno (PE), poli(cloreto de vinila) (PVC), poliestireno (PS), poliésteres, polipropileno (PP), resinas acrílicas, resinas fenólicas, poliamidas, etc.

II. Polímeros provenientes de fontes renováveis e não biodegradáveis: esta classe é composta por polímeros que tradicionalmente têm sido sintetizados utilizando-se monômeros provenientes de fontes fósseis, mas que recentemente passaram a ser sintetizados também a partir de matérias primas provenientes de fontes renováveis. São comercialmente denominados de plásticos "verdes", sendo os principais: PE "verde", PVC "verde" e o poli(etileno tereftalato) (PET) "verde". Ressalta-se, entretanto, que embora sejam provenientes de fontes renováveis, esses polímeros não são biodegradáveis, e possuem as mesmas propriedades de quando obtidos a partir de fontes fósseis, e por isso também podem representar grandes prejuízos ao meio ambiente.

III. Polímeros provenientes de fontes não renováveis e biodegradáveis: representam os polímeros obtidos a partir de monômeros provenientes de fontes fósseis, ou seja, não renováveis, mas que são biodegradáveis. Geralmente, são polímeros com ligações do tipo éter ou éster, pois

facilitam o ataque por enzimas de micro-organismos. É o caso, por exemplo, do poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT), policaprolactona (PCL), poli(vinil álcool) (PVOH) entre outros.

IV. Polímeros provenientes de fontes renováveis e biodegradáveis: representam os polímeros mais “amigáveis” ao meio ambiente. Como a origem dos polímeros dessa classe é bastante diversificada, ela será dividida em quatro grupos:

a) Origem vegetal: nesse grupo se encontram muitos polímeros amplamente encontrados na natureza como o amido, o alginato, a pectina e a celulose e alguns de seus derivados, como o acetato de celulose (AC). De modo geral, vários desses polímeros não apresentam propriedades termoplásticas, sendo muitas vezes necessária a adição de plastificantes ou mesmo alguma modificação química para que possam ser processados, seja via “casting” ou extrusão.

b) Origem animal: polímeros que são também abundantes na natureza, como a quitina, principal polímero formador da carapaça de crustáceos e seus derivados, como a quitosana.

c) Micro-organismos: os polímeros deste grupo são produzidos por bactérias a partir de vários substratos de carbono. Os polímeros mais conhecidos pertencem à família dos polihidroxialcanoatos (PHA), sendo o principal representante o poli( $\beta$ -hidroxibutirato) (PHB).

d) Biotecnologia: embora estes polímeros tenham origem essencialmente agrícola, eles são

classificados nesse grupo por serem sintetizados a partir de monômeros produzidos por bactérias pela fermentação de biomassa, sendo o poli(ácido lático) (PLA) o principal polímero representante dessa classe.

Dessa forma, os filmes e revestimentos poliméricos biodegradáveis de liberação controlada de compostos ativos são produzidos a partir de polímeros pertencentes às classes III e IV.

Como o processo de biodegradação é complexo e interfere diretamente nas propriedades desses sistemas, serão apresentados alguns conceitos e os principais fatores interferentes neste processo.

Biodegradação

### *Processo de biodegradação*

No passado, biodegradação era definida como a decomposição de compostos pela ação de micro-organismos, resultando na reciclagem do carbono e a mineralização de compostos orgânicos. Porém, atualmente, este processo é mais bem entendido, podendo ser dividido nas seguintes etapas (Lucas et al., 2008; Leja & Lewandowicz, 2010; Majeed et al., 2015):

- Desintegração/Degradação/(Bio)deterioração: representada por uma ação combinada de comunidades microbianas, outros organismos decompositores e fatores abióticos, que fragmentam o material de origem em frações menores, resultando em alterações mecânicas, químicas e enzimáticas.

O desenvolvimento microbiano superficial depende da constituição do material e das condições ambientais: umidade, clima, poluentes atmosféricos. Os micro-organismos envolvidos nesse processo são diversos e pertencem a vários grupos, sendo os principais: bactérias, protozoários e fungos. Eles podem se desenvolver de forma isolada ou sinergicamente, em comunidades estruturadas e organizadas, conhecidas como biofilmes, provocando grandes danos no material. O desenvolvimento de diferentes espécies microbianas aumenta a biodeterioração e conseqüentemente, a produção de moléculas menores. Todas essas substâncias servem como fonte de carbono e nitrogênio, bem como fatores de crescimento para os micro-organismos.

O termo biodeterioração indica a predominância de atividade biológica. Entretanto, na natureza, fatores bióticos e abióticos atuam sinergicamente na decomposição de materiais orgânicos. Portanto, a degradação abiótica não deve ser negligenciada. Materiais poliméricos que são expostos às intempéries, como por exemplo, variações de temperatura, umidade e chuvas, podem passar por transformações mecânicas, térmicas e químicas em sua estrutura, de menor ou maior grau de importância. Essa exposição altera as propriedades de biodegradação desses materiais, sendo que, na maioria dos casos, há uma contribuição para enfraquecimento da estrutura polimérica. Assim, esses fatores abióticos são úteis na iniciação do processo de

biodegradação ou também podem atuar de forma sinérgica no mesmo processo.

-Despolimerização/Biofragmentação: fenômeno lítico necessário para o evento subsequente: assimilação. É realizada por agentes abióticos bem como por agentes catalíticos (enzimas e radicais livres) secretadas por micro-organismos, que são capazes de quebrar/hidrolisar as cadeias poliméricas, reduzindo progressivamente sua massa molar (MM). Nesse estágio, algumas moléculas podem ser reconhecidas por receptores de células microbianas e permear pela membrana citoplasmática, enquanto que outras moléculas podem permanecer no meio extracelular e sofrer variadas modificações.

- Assimilação: no citoplasma, as moléculas permeadas são utilizadas pelo metabolismo microbiano, como fonte de elétrons ou elementos (carbono, nitrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre), resultando em produção de energia, biomassa, e outros metabólitos primários ou secundários. Alguns monômeros são facilmente permeados pela membrana, por meio de receptores específicos, enquanto que outras moléculas simples devem passar por processos extracelulares para depois serem transportadas para o interior celular. Portanto, a assimilação permite o crescimento e a multiplicação dos micro-organismos pelo consumo de substratos provenientes do ambiente.

De acordo com as características dos micro-organismos e da presença ou não de oxigênio no meio, há três rotas catabólicas possíveis: respiração



aeróbica, respiração anaeróbica e fermentação. Na respiração aeróbica o oxigênio é utilizado como acceptor final de elétrons, enquanto que na respiração anaeróbica os micro-organismos também podem realizar a completa oxidação do substrato, mas necessitam utilizar outros compostos como acceptor final de elétrons, como o  $\text{NO}^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , S,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ou fumarato. Por outro lado, na fermentação, não há uma completa oxidação, resultando em menor produção de energia. Nesse caso, os produtos podem ser moléculas orgânicas, como o etanol, lactato, acetato e butanodiol, ou inorgânicas, como o  $\text{CO}_2$ .

- Mineralização: concomitantemente à assimilação, alguns metabólitos simples e complexos podem ser excretados para o meio extracelular (por exemplo, ácidos orgânicos, aldeídos, terpenos, antibióticos, etc.), enquanto que moléculas simples, como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , e sais minerais são completamente oxidadas e liberadas do meio intracelular para o extracelular. A mineralização é considerada completa quando todos os materiais biodegradáveis e a biomassa é consumida e todo o carbono é convertido para forma de  $\text{CO}_2$ .

*Propriedades intrínsecas dos materiais poliméricos que afetam a biodegradação*

### *Estrutura química*

A estrutura química é a propriedade mais importante na definição da taxa e do grau de biodegradação de materiais poliméricos, especialmente com relação ao tipo de ligação química entre os monômeros. De forma geral, a maioria dos compostos de elevada MM que apresentam biodegradabilidade são poliésteres e/ou poliéteres. A principal razão disso é que as estruturas químicas desses polímeros são facilmente atacadas por micro-organismos, através de hidrólise das ligações químicas (Negoro, 2000). Modificações na estrutura química, como no caso da celulose e derivados, também podem acelerar ou reduzir a biodegradação dos polímeros (Puls et al., 2011).

### *Massa molar (MM) e cristalinidade*

De forma geral, quanto maior a MM de um polímero, menor a sua taxa de biodegradação, o mesmo ocorrendo para o grau de cristalinidade, uma vez que nas regiões onde as cadeias poliméricas estão mais bem organizadas (regiões cristalinas) há um retardamento da difusão de  $O_2$  e  $H_2O$ , bem como de enzimas hidrolíticas, limitando a ação desses agentes sobre as cadeias poliméricas. Dessa forma, quanto menor o nível de organização molecular, mais facilmente as reações oxidativas e de hidrólise ocorrerão (Gonçalves et al., 2011).

## *Aditivos*

Materiais plásticos são compostos de base polimérica e que contêm em sua composição outros compostos denominados de aditivos, tais como estabilizantes, corantes, plastificantes, etc, que são adicionados em proporções variadas de acordo com a sua aplicação comercial. Embora atualmente seja praticamente impossível a produção de produtos de alta qualidade sem uso de aditivos sintéticos, há uma forte tendência para substituição destes por aditivos também biodegradáveis, o que contribuiria para uma maior taxa de biodegradação (Siracusa et al., 2009).

## *Blendas poliméricas*

Embora já se produzam alguns materiais poliméricos biodegradáveis, sua comercialização ainda é um grande desafio, pois de forma geral apresentam custo mais elevado e propriedades inferiores aos polímeros tradicionais. Assim, uma alternativa para contornar tais problemas seria o desenvolvimento de blendas, isto é, mistura de dois ou mais polímeros, com o objetivo de se produzir materiais com boas propriedades e ao mesmo tempo de custo reduzido. Neste contexto, pode-se destacar a adição de amido ou celulose e seus derivados a diferentes bases poliméricas, uma vez que esses polímeros possuem

alta biodegradabilidade e baixo custo (Pellicano et al., 2009; Imre & Pukánsky, 2013).

Além das características intrínsecas dos polímeros, acima citadas, deve-se levar em conta também as características do material. Por exemplo, a espessura, o tamanho, e a forma de utilização influenciam diretamente em sua biodegradabilidade (Funabashi et al., 2009).

### *Sinergismo entre os fatores abióticos e bióticos*

Embora a biodegradação seja um fenômeno predominantemente biológico, muitos fatores abióticos a influenciam. Nas duas primeiras etapas da biodegradação, os fatores abióticos atuam diretamente sobre o processo, uma vez que promovem o enfraquecimento do material (biodeterioração) bem como aceleram a quebra das cadeias poliméricas, resultando em frações de menor MM (biofragmentação).

Por outro lado, os fatores abióticos interferem indiretamente na terceira etapa da biodegradação, uma vez que embora a assimilação seja realizada por micro-organismos, a atividade dos mesmos é influenciada pelas condições ambientais, tais como temperatura, umidade, radiação ultravioleta (UV), etc.

## *Temperatura*

Temperaturas mais elevadas aceleraram o processo de biodegradação devido à aceleração das reações de oxidação e hidrólise dos polímeros e também pelo favorecimento do desenvolvimento de micro-organismos termofílicos. De forma geral, quanto maior a temperatura, maior será a taxa de biodegradação, até valores próximos de 65 °C. Acima deste valor, torna-se inapropriada, pois muitos micro-organismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica são inativados, reduzindo seu metabolismo (Lotto et al., 2004).

Atualmente, a maioria dos testes padronizados realizados em laboratório utiliza a temperatura de 58 °C, uma vez que em instalações de compostagem municipais ou industriais, esta é a temperatura alcançada pela compostagem durante a biodegradação dos materiais plásticos.

## *Luz*

A luz, assim como a temperatura, representa um dos fatores abióticos mais importantes para as etapas de biodeterioração e biofragmentação, principalmente para materiais fotossensíveis (Lucas et al., 2008).

Em alguns casos, agentes fotossensíveis podem ser adicionados intencionalmente aos polímeros para induzir a degradação pela luz. Por exemplo, agentes

pro-oxidantes que podem ser ativados dependendo da intensidade, comprimento de onda e tempo de exposição à luz.

### *Composição físico-química do meio*

Muitos agentes químicos e físicos presentes naturalmente no ambiente de biodegradação, como  $O_2$  e  $H_2O$ , ou provenientes da atividade humana, como poluentes atmosféricos ou resíduos agroquímicos, podem influenciar na biodegradação de materiais plásticos, conforme comentado a seguir (Lucas et al., 2008; Leja & Lewandowicz, 2010; Gonçalves et al., 2011):

Oxigênio: dentre os agentes químicos que podem acelerar a biodegradação dos materiais, o oxigênio destaca-se como o mais importante. Este elemento, que pode estar como  $O_2$  ou  $O_3$  ataca as ligações covalentes, produzindo radicais livres. A degradação oxidativa depende da estrutura do polímero, como ligações duplas e ramificações. Essas reações de oxidação podem ocorrer concomitante ou sinergicamente com a degradação pela luz, formando-se radicais livres e resultando na quebra das cadeias poliméricas. Além de participar diretamente das reações de quebra das cadeias, o oxigênio também é fundamental para a atividade microbiana, permitindo o crescimento dos micro-organismos aeróbios, responsáveis pela assimilação.

Umidade: o nível e o tipo de interação que os polímeros têm com a água estão diretamente

relacionados com a biodegradação. De forma geral, quanto maior a interação com a água, maior a taxa de biodegradação, especialmente se o polímero contiver em sua estrutura grupamentos químicos susceptíveis às reações de hidrólise, como anidrido, éter, éster, amida, carbamida, etc. Ademais, a água, além de participar diretamente das reações de hidrólise, também é fundamental para o desenvolvimento dos micro-organismos que irão assimilar a matéria orgânica.

Acidez/alcalinidade do meio: a maioria das reações envolvidas na biodegradação são dependentes do pH do meio. Por exemplo, o PLA, a PCL e o (poli(propileno carbonato)) (PPC) apresentam reduzida taxa de hidrólise em meio neutro, mas em pH baixo e principalmente alto, esse processo ocorre em taxas mais elevadas.

Poluentes atmosféricos: representam uma fonte potencial de nutrientes para os micro-organismos. O depósito de  $SO_2$ , hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos e corantes orgânicos podem servir como nutrientes para micro-organismos, favorecendo a colonização de superfícies de materiais poliméricos.

### *Micro-organismos*

Micro-organismos estão naturalmente presentes no solo e podem prontamente sintetizar enzimas (celulase, amilase, cutinase) capazes de hidrolisar polímeros que são utilizados na produção de materiais plásticos. Seu desenvolvimento em uma



superfície polimérica depende da constituição e das propriedades do material, bem como das condições ambientais (umidade, temperatura, poluentes atmosféricos), podendo ocorrer isoladamente ou de forma conjunta e organizada. Além disso, algumas espécies microbianas, sob condições específicas, tem a capacidade de produzir substâncias extracelulares (polissacarídeos, proteínas) capazes de penetrarem nos poros do material e provocarem mudanças na estrutura polimérica, aumentando sua biodegradabilidade. Essas substâncias podem agir também como agentes surfactantes, promovendo uma maior interação entre as fases hidrofílica e hidrofóbica, e conseqüentemente facilitando a penetração microbiana no material (Lucas et al., 2008; Leja & Lewandowicz, 2010).

### *Filmes e revestimentos poliméricos biodegradáveis de liberação controlada de compostos ativos*

Os materiais poliméricos utilizados podem ser classificados também de acordo com sua interação com o meio em que está sendo aplicado, isto é, se é inerte, ou seja, não ocorre liberação intencional e desejável de compostos ou se representa um sistema de liberação controlada (SLC) de composto(s) ativo(s) que irão resultar na melhoria intencional e desejável de determinado(s) processo(s).

Estes SLC podem ter diversas formas físicas, que variam de acordo com a aplicação desejada, sendo as mais comuns: géis, filmes e revestimentos.

Neste texto, serão abordadas as principais características, propriedades e aplicações de filmes e revestimentos poliméricos biodegradáveis de liberação controlada de compostos ativos. Assim, faz necessário a distinção entre esses dois termos, sendo definidos por Falguera et al. (2011) como:

- Revestimento: suspensão ou emulsão aplicada diretamente sobre a superfície do produto (fertilizante, semente, fruto, etc), geralmente por imersão ou aspersão, ocorrendo então, a formação da película sobre o mesmo.

- Filme: película/filme formada separadamente do produto (fruto, solo, etc), e depois aplicada sobre o mesmo, quando então entram em contato.

Para escolha do melhor tipo de SLC, muitos fatores devem ser levados em consideração para que possam ter a melhor eficácia e ao mesmo tempo um custo viável. Três dos mais importantes são: a quantidade liberada do composto ativo, até atingir o ponto de equilíbrio<sup>1</sup> (quando não ocorre mais liberação significativa), a taxa de liberação, e o custo.

Estes fatores, por sua vez, dependem de muitos outros, sendo alguns dependentes da formulação (componentes químicos) do revestimento/filme propriamente, enquanto outros estão mais associados ao processo de produção. Dessa forma, a seguir serão

---

<sup>1</sup> A liberação do composto ativo ocorre até que o seu potencial químico se iguale no material de origem e no meio para o qual ocorre a sua liberação.

destacados os principais pontos a serem ponderados e que serão decisivos na escolha da formulação e posterior produção desses SLC (Kandil et al., 2004; Pen & Chen 2011; Petrikosky et al., 2011; Jia et al., 2013; Bortoletto-Santos et al., 2014; Daitx, 2016; Dall'agnol et al., 2016):

- Polímero: os materiais plásticos são formados a base de polímero(s). Assim, a quantidade de compostos ativos liberados para o meio bem como a taxa com que este processo ocorre está diretamente relacionadas ao(s) tipo(s) de interação(ões) e ligação(ões) química(s) que possam ocorrer com as cadeias poliméricas. De forma geral, quanto maior em número e intensidade a(s) interação(ões) entre o composto ativo a ser liberado e o polímero, menor a taxa de liberação. São exemplos de interações fortes as ligações de hidrogênio e, em casos alguns específicos, as ligações químicas do tipo iônica e/ou covalente. Em alguns casos extremos, a(s) interação(ões)/ligação(ões) se dá(ão) de forma tão intensa que a liberação só ocorrerá quando da biodegradação do material.

Além da taxa de liberação, outras propriedades dos materiais poliméricos devem ser levadas em consideração na escolha do polímero base. Essas propriedades são intrínsecas de cada polímero, embora possam ser parcialmente alteradas de acordo com a incorporação de outros aditivos ou com o método de produção:

- Barreira ao vapor d'água e oxigênio: muitas reações são dependentes de umidade e de

oxigênio, de forma que esta característica deva ser levada em consideração na escolha do polímero. É o caso do revestimento de sementes e frutas que devem ter barreira parcial ao oxigênio, de forma a reduzir o metabolismo do vegetal, se esta for a intenção, sem criar um ambiente de anaerobiose (ausência de oxigênio). Em outros casos, como em aplicações de filmes e revestimentos em vegetais minimamente processados, a quase ausência de oxigênio pode ser necessária para inibir as reações de escurecimento;

- Solubilidade/interação com água: de forma geral, quanto maior a interação com a água, maior a taxa de liberação, especialmente quando o composto ativo também é hidrofílico;
- Mecânicas: em alguns casos, pode ser exigido que o material apresente boas propriedades mecânicas, como por exemplo, em filmes que serão tracionados durante sua aplicação no solo;
- Óticas (transparência e opacidade): estas propriedades interferem diretamente na velocidade das reações físico-químicas e fisiológicas que dependem da luz;
- Toxicidade/comestibilidade: os materiais não devem apresentar toxicidade de acordo com sua aplicação. Por exemplo, caso sejam aplicados sobre o solo, não devem contaminá-lo. Em outros casos, como o revestimento de

frutas e hortaliças, pode ser interessante que seja comestível, possibilitando sua ingestão;

- Sabor/odor: nos casos em que o filme ou revestimento entrar em contato com produtos que serão posteriormente consumidos, é desejável que o material polimérico não possua sabor/odor desagradável, para que o produto não seja afetado negativamente com relação às suas características sensoriais.
  - Proporção entre polímeros: em alguns casos, seja por questões técnicas ou econômicas, é viável que os sistemas poliméricos sejam formados por mais de um tipo de polímero, sendo então chamados de misturas ou blendas poliméricas. Nesses casos, os tipos e intensidades das interações entre os compostos ativos incorporados e as cadeias poliméricas e entre as próprias cadeias dos diferentes polímeros são bastante específicas e dependentes da proporção entre eles. Desta forma, a taxa de liberação dos compostos ativos é variável e de difícil previsão teórica. Contudo, testes experimentais podem ser realizados para a determinação dessas propriedades.
    - Estrutura química e concentração do agente ativo: a estrutura química do agente ativo está diretamente relacionada às intensidades das interações com as cadeias poliméricas, que por sua vez, está relacionado à taxa de liberação, conforme já comentado. Quanto à concentração do composto ativo, naturalmente, quanto maior sua concentração no material, maior a taxa de liberação.

- Aditivos: o uso de aditivos é bastante comum nas formulações dos materiais poliméricos, e objetivam a melhoria de alguma propriedade ou redução de custo, sendo, em alguns casos, até mesmo obrigatória. Com relação especificamente a taxa de liberação de compostos ativos, podem aumentá-la ou reduzi-la, de acordo com tipo e quantidade utilizados, o tipo de polímero(s) e do próprio composto ativo. Os tipos mais comuns de aditivos são os plastificantes, que atuam de forma a reduzir as interações entre as cadeias poliméricas e geralmente aumentam a taxa de liberação dos compostos ativos. Por outro lado, os agentes de inter cruzamento objetivam reduzir a taxa de liberação, uma vez que promovem a formação de ligações cruzadas entre as cadeias do(s) polímero(s).

Além disso, podem ser adicionados aditivos bem específicos, como o sulfato de bário em resinas de poliuretanas, que em contato com água se torna solúvel e conseqüentemente promove a formação de poros no material, facilitando a liberação dos compostos ativos para o meio (Bortoletto-Santos et al., 2014).

Não é raro acontecer de um aditivo atuar positivamente em mais de uma propriedade, da mesma forma, é possível que melhore uma propriedade alvo, mas altere também negativamente outra(s) propriedade(s).

- Uso de sistemas híbridos: outra estratégia para redução da taxa de liberação dos compostos ativos é o uso de sistemas híbridos, onde há a formação de uma fase inorgânica dispersa em outra orgânica.

Assim, o composto ativo é primariamente adsorvido ou ligado quimicamente à fração inorgânica, geralmente composta por zeólitas e argilas do tipo lamelar, e então incorporados à matriz polimérica (orgânica). Estes sistemas podem ser produzidos em uma ou mais etapas.

- Espessura, número de camadas e porosidade: dependendo do tipo de filme ou revestimento e da forma de produção, muitas vezes é possível controlar sua espessura e porosidade, e até mesmo produzir mais de uma camada. Naturalmente, quanto maior o número de camadas e mais espessas, e menor a porosidade, menor a taxa de liberação. Além disso, a espessura está também relacionada a muitas outras propriedades dos materiais poliméricos já citadas, como as propriedades mecânicas e de barreira.

- Meio de migração: está relacionado às características físico-químicas e biológicas do meio para o qual se deseja que o composto ativo seja liberado. Assim, quanto maior afinidade entre ambos, maior a taxa de liberação. É o que ocorre, por exemplo, para liberação de fertilizantes hidrofílicos em meios de elevada umidade.

- Método de produção: o método de produção interfere nas propriedades dos polímeros já citadas, o que pode, conseqüentemente, alterar a taxa de liberação. Na sua escolha, devem ser levados em conta o custo e também fatores técnicos. Por exemplo, a extrusão é um método de produção de filmes de custo viável, porém envolve altas



temperaturas e pressões, o que pode ser indesejável quando o composto ativo for termolábil.

- Disponibilidade: para que esses materiais possam ser utilizados em escala comercial é necessário que haja grande disponibilidade dos mesmos, o que dependendo da fonte originária, pode representar um impeditivo técnico e/ou econômico.

- Custo: para que os produtos e tecnologias desenvolvidos possam de fato ser comercializados em ampla escala, o custo desses materiais deve sempre ser levado em consideração.

- Taxa de biodegradação: é valido lembrar que além de afetar de forma direta a taxa de liberação dos compostos ativos, alguns dos fatores acima citados também a afetam indiretamente. Isto ocorre porque esses mesmos fatores também interferem na taxa de biodegradação dos materiais poliméricos que, por sua vez, ao se biodegradarem, liberam os compostos ativos para o meio. Sabe-se que em SLC não biodegradáveis, aproximadamente 15 a 30 % dos fertilizantes não é liberada para o meio, devido à não biodegradação desses materiais, resultando em prejuízos técnicos, econômicos e ambientais que podem ser reduzidos pelo uso de matrizes poliméricas biodegradáveis. Numa situação ideal, o tempo de biodegradação dos materiais de revestimento deve ser superior ao tempo necessário para liberação do fertilizante/pesticida, justamente para que o processo alcance seu objetivo principal, ou seja, ocorra de forma lenta e controlada. Entretanto, muitas vezes a taxa de biodegradação dos polímeros é tão elevada

de forma que o processo possa não ocorrer da melhor forma possível. Nesses casos, deve-se utilizar estratégias de redução da taxa de biodegradação, como a incorporação à formulação de aditivos que retardam este processo, adição ou substituição por outros polímeros de menor taxa de biodegradação, ou até mesmo o aumento da espessura do mesmo.

### *Aplicações*

Devido à suas propriedades únicas, os materiais poliméricos têm sido utilizados amplamente na agricultura. A seguir, serão exploradas as aplicações mais recentes relacionadas aos filmes e revestimentos poliméricos biodegradáveis de liberação controlada de compostos ativos.

### *Revestimentos e filmes de liberação controlada de fertilizantes e pesticidas*

O constante aumento da população mundial tem cada vez mais demandado pela aplicação de tecnologias inovadoras, resultando numa agricultura de alta produtividade. Dentre estas tecnologias, o uso de fertilizantes tem sido uma das mais eficientes. No entanto, sua aplicação de forma indiscriminada pode acarretar em menor eficiência devido a perdas por lixiviação e volatilização, e, portanto, menor produtividade e maior custo de produção. Além disso,

pode levar a uma contaminação do solo, ar e cursos d'água.

Uma das formas de se otimizar sua aplicação e reduzir tais problemas é o revestimento dos fertilizantes por meio de materiais poliméricos, servindo como membranas de permeabilidade controlada, retardando as reações de hidrólise e/ou hidratação desses compostos, e conseqüentemente, a taxa de liberação para a planta. Sempre que possível, deve-se priorizar o uso de biomateriais, uma vez que não provocariam seu acúmulo no solo e, ainda, se tratar de um diferencial de *marketing* para o produto (Bortoletto-Santos et al., 2014; Majeed et al., 2015).

Dentre esses biomateriais, as poliuretanas (PU) produzidas a partir de derivados do óleo de mamona e óleo de soja apresentam grande possibilidade de aplicação, pois estudos comprovam a liberação de mais de 90% de ureia<sup>2</sup> em água, sendo a estabilidade atingida somente após 40 dias. Ou seja, apresentou um comportamento de liberação lenta e controlada para o meio (Bortoletto-Santos et al., 2014).

Além do uso como revestimento, os materiais plásticos podem também ser utilizados como filmes para diversas finalidades na agricultura. Tradicionalmente, uma importante aplicação desses filmes tem sido para cobertura de solos com o objetivo de aumentar a produtividade, contribuir no manejo de plantas daninhas e causar menor agressão

---

<sup>2</sup>O nitrogênio (N) é um dos macronutrientes de maior importância para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, sendo a ureia sua forma mais comum de aplicação/reposição do solo.

ao meio ambiente, uma vez que leva a um aumento da temperatura do solo, bem como otimiza o aproveitamento da água de irrigação e de fertilizantes (Chiellini et al., 2000). Contudo, a maioria dos plásticos utilizados não são biodegradáveis, sendo portanto, necessária sua remoção após uso e descarte correto, para que não se acumule no ambiente. Dessa forma, o uso de filmes biodegradáveis seria uma alternativa sob ponto de vista econômico e ambiental, favorecendo a uma agricultura mais sustentável.

Um dos polímeros que tem se mostrado mais promissores para esta aplicação tem sido a gelatina (colágeno), polímero biodegradável e proveniente, por exemplo, de resíduos da indústria farmacêutica. Assim, além de resolver o problema de descarte dessas indústrias, a produção de filmes de colágeno aditivados de fertilizantes serviria como SLC, podendo até mesmo servir como fonte de N para a planta, devido ao elevado teor desse elemento na gelatina (Kandil et al., 2004).

Outra forma de se controlar a liberação de fertilizantes para o solo é por meio da utilização de sistemas híbridos inorgânicos/orgânicos de argila dispersa em polímeros biodegradáveis, como a quitosana. Quando incorporados com Nitrato de Potássio ( $\text{KNO}_3$ ), esses sistemas se mostram eficientes na liberação controlada de nitrogênio (N). Contudo, a mesma eficiência para liberação gradativa de potássio (K) não foi observada após 30 dias de aplicação (Baccarin et al., 2015).

Assim como para os fertilizantes, o revestimento de pesticidas com materiais poliméricos apresenta grandes vantagens ambientais e econômicas, como a intensificação da ação de agentes ativos resultando em melhor eficácia biológica, redução da fitotoxicidade e perdas por evaporação e/ou lixiviação, além da redução da exposição dos trabalhadores aos materiais tóxicos e da contaminação ambiental (Dall'agnol et al., 2016).

A liberação controlada de cipermetrina revestida com blendas de PHB e PCL tem se mostrado promissora como SLC de pesticidas. Além disso, conforme comentado anteriormente, o uso de diferentes proporções entre esses biopolímeros permite a produção de materiais com diferentes taxas de biodegradação e, conseqüentemente, de liberação deste pesticida para o meio. Por exemplo, a liberação *in vitro* de cipermetrina ocorreu em maior velocidade quando maiores concentrações de PCL eram utilizadas em relação ao PHB (Dall'agnol et al., 2016).

Ressalva-se que, além das vantagens sob ponto de vista ambiental já citadas, a utilização de polímeros biodegradáveis para revestimento de fertilizantes e pesticidas ou sua incorporação em filmes pode reduzir o estresse oxidativo, além de favorecer/aumentar a retenção de umidade dos solos, devido à capacidade de formação de hidrogéis que muitos apresentam. Esses materiais poderiam ser utilizados até mesmo para o revestimento de biofertilizantes, facilitando a liberação de culturas microbianas naturais ou geneticamente modificadas para o solo de forma a

solubilizar nutrientes insolúveis, como a partir de rochas minerais, e mantendo contínuo o fluxo de nutrientes para as raízes das plantas. Portanto, os mais recentes estudos e desenvolvimentos nesta área envolvem o uso de tecnologias de liberação controlada desses agentes, de forma a reduzir perdas e fornecer os nutrientes específicos de acordo com as necessidades de cada planta, levando-se em consideração inclusive seu estágio de desenvolvimento bem como as condições específicas do solo (Majeed, 2015).

### *Revestimentos de sementes e gemas*

O uso de materiais poliméricos para o revestimento de sementes e gemas não é propriamente uma técnica recente, sendo tradicionalmente utilizada com os objetivos de retardar a germinação e brotação de sementes e gemas, respectivamente, evitar a embebição em solos excessivamente úmidos ou aumentar a proteção quando a umidade do solo é muita baixa. Esses revestimentos podem ser aplicados em camada única ou multicamadas, geralmente recobrem mais de 90% da superfície das sementes ou gemas, e podem resultar num aumento de massa da ordem de 1 a 10% (Sherma et al., 2015).

Contudo, além das funções acima citadas, os materiais poliméricos utilizados nesses revestimentos podem ser adicionados de compostos com objetivo de inibir reações ou microrganismos indesejáveis,

como antioxidantes, antibióticos, fungicidas, e até mesmo agentes biológicos; ou melhorar a nutrição e desenvolvimento, como hormônios e micronutrientes, de acordo com necessidades específicas.

Segundo Santos et al. (2010), o Brasil é o maior produtor mundial de sementes de *Brachiaria* sp., representando um faturamento anual de milhões de dólares e a manutenção de milhões de empregos. Porém, apesar da grande importância, o uso de sementes de má qualidade é causa frequente de fracasso na formação de área de pastagens. Assim esses autores propuseram o uso de diferentes materiais de revestimento associados com tratamentos químicos e avaliaram a qualidade sanitária e fisiológica (teste da germinação e emergência de plântulas). Foi verificado que sementes revestidas e tratadas quimicamente mantiveram sua qualidade fisiológica ao longo dos 12 meses de armazenamento; e que de forma geral, o revestimento de sementes promoveu a redução da velocidade de germinação e emergência de plântulas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

O uso de revestimentos adicionados de compostos ativos também pode ser interessante para o aumento da vida útil de sementes de girassol, uma vez que pode ser necessário o seu estoque por longos períodos, para posterior extração do óleo. Nesses casos, o principal problema está relacionado ao ataque dessas sementes por fungos, o que pode ser evitado pelo uso de revestimentos de pectina e

polipropilenoglicol adicionados de extrato alcoólico de própolis (Corrêa, 2011).

Recentemente, tem-se estudado também o uso de revestimentos de sementes adicionados de micronutrientes, uma vez que a aplicação desses compostos ao solo ou foliar apresentam aspectos negativos sob o ponto de vista técnico, ambiental e econômico. De forma geral, este tipo de tecnologia traz como benefícios maior taxa de germinação, estande mais adequado/vigoroso, promoção de melhorias nos eventos fenológicos e aumento do rendimento e conteúdo de micronutrientes dos grãos. Segundo Farooq et al. (2012), os principais fatores que interferem na efetividade de revestimentos incorporados com micronutrientes são: material de revestimento, tipo de solo, umidade, tipo de micronutriente e de semente, e a proporção entre estes. Devido à boa relação custo benefício e à relativa simplicidade, esta tecnologia apresenta-se como uma interessante alternativa, especialmente para agricultores de recursos limitados.

Bays et al. (2007) avaliaram o recobrimento de sementes de soja cv. BRS 153 com micronutrientes (CoMoB: 1, 2 e 4 mL por quilo de sementes), um fungicida com mistura de Carbendazim + Thiram (Derosal Plus<sup>®</sup>) e um complexo polímero + corante (Laborsan Red Solid Pam Brill<sup>®</sup>) e verificaram que houve uma melhoria na aparência, aderência, distribuição e coloração das sementes. Além disso, não houve prejuízo à qualidade fisiológica, até o limite



de 2 mL de micronutrientes por quilograma de sementes.

Sabe-se que atualmente o Brasil é o maior produtor do mundo de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), de modo que existe uma demanda muito grande para obtenção de material vegetal para sua propagação (6 a 14 ton ha<sup>-1</sup>), a fim de almejar um estande adequado e plantas vigorosas. Uma técnica que poderia aprimorar o plantio seria o uso de mini-toletes, o que, contudo, pode acarretar riscos na falta de brotação das gemas e a formação de um estande inadequado. Assim, Oliveira et al. (2016) desenvolveram um revestimento polimérico adicionado de antioxidante para mini-toletes e observaram que houve uma redução da atividade da enzima catalase, indicando atividade antioxidante do revestimento. Houve, assim, um favorecimento do crescimento, pois reduziu a degradação das reservas energéticas do vegetal, além de reduzir o contato entre mini-toletes e a fração sólida do solo em que se apresenta os microrganismos, uma vez que estes também são responsáveis para a degradação das reservas energéticas.

### *Filmes e revestimentos de frutas e hortaliças*

O revestimento de frutas e hortaliças para o aumento da vida útil não é propriamente uma técnica recente, sendo esta tecnologia tradicionalmente utilizada com o objetivo de retardar a senescência e

estender a vida útil dos produtos por meio da (Rojas-Grau et al., 2009; Falguera et al., 2011):

- Redução da perda de umidade e compostos voláteis;
- Redução da permeabilidade ao oxigênio e gás carbônico, reduzindo o metabolismo do vegetal, o desenvolvimento de microrganismos, reações oxidativas e a produção de etileno e contribuindo para manutenção das características sensoriais;
- Preservação da integridade física e textura durante transporte, manuseio e comercialização.

Essas vantagens estão diretamente relacionadas às características do revestimento, como tipo de polímero, solvente, espessura, adição de plastificantes, hifrofilicidade/hidrofobicidade, e do produto, como taxa de metabolismo ou se é climatérico ou não, sendo específicas para cada par revestimento/vegetal. Ressalta-se que se deve ter o cuidado de se evitar um ambiente de total anaerobiose, o que poderia levar a produção de compostos indesejáveis, como etanol e acetaldeído, devido à fermentação anaeróbica. Além disso, outras tecnologias de conservação podem ser usadas em associação ao uso de revestimento, sendo as mais comuns a refrigeração e o processamento mínimo.

Entretanto, mais recentemente, esses revestimentos têm sido adicionados de compostos químicos, enzimas e até mesmo microrganismos que objetivam promover a melhoria adicional de alguma propriedade físico-química, sensorial, nutricional ou microbiológica do vegetal.

Para tanto, diversas classes de aditivos podem ser utilizadas, como conservantes e antioxidantes. Esses compostos migram de forma lenta e controlada para a superfície das frutas e hortaliças, onde promoverão o efeito desejado. Ademais, muitos dos novos materiais utilizados para esta finalidade são considerados seguros sob ponto de vista toxicológico, podendo, portanto, serem considerados como comestíveis.

Compostos antimicrobianos representam a principal classe de compostos ativos que são adicionados aos revestimentos. Geralmente são os mesmos já tradicionalmente adicionados diretamente aos alimentos, como ácidos orgânicos (ácido sórbico, benzoico, láctico, cítrico) ou seus sais, ésteres de ácidos graxos, bacteriocinas e natamicina, e mais recentemente, compostos hidrofóbicos voláteis, como óleos essenciais (OE) de cravo, orégano, canela e capim limão. Estes últimos possuem a vantagem de serem considerados compostos naturais, característica que tem sido cada vez mais valorizada. Além disso, sua incorporação em revestimentos minimizam o possível impacto sensorial negativo que poderiam causar se adicionados diretamente aos alimentos. Estudos indicam também a possibilidade da adição de compostos nutrientes e bioativos promovendo uma melhoria direta na saúde dos consumidores, especialmente com o desenvolvimento de novas técnicas de micro e nanoencapsulação desses nutrientes (Falguera et al., 2011; Sánchez-Gonzales et al., 2011).

Embora o processamento mínimo seja uma excelente alternativa para melhor aproveitamento da produção, agregação de valor ao produto e satisfação da demanda do mercado consumidor por produtos alimentícios mais próximos ao natural e de fácil preparo/consumo, pode ocasionar alterações negativas, principalmente com relação à atividade enzimática oxidativa e microbiológica, além de perda de umidade e textura.

Objetivando contornar tais problemas, Pizato et al. (2013) estudaram o efeito da aplicação de diferentes gomas (xantana, tara e alginato de sódio) adicionados de agentes antioxidantes e de firmeza na conservação de maçãs minimamente processadas e concluíram que o revestimento de goma xantana associado aos ácidos cítricos e ascórbico e cloreto de cálcio foi o mais eficiente na manutenção da cor e firmeza, bem como na redução de perda de massa e desenvolvimento microbiano.

O uso de revestimentos comestíveis ativos incorporados com OE de hortelã mostrou-se eficientes na conservação de abacaxi, uma vez que inibiu o crescimento de fungos e leveduras, bem como reduziu o desenvolvimento de psicrotróficos, quando comparado aos frutos sem revestimento e com revestimento controle, enquanto que o pH, a acidez titulável e a textura não foram afetados (Bitencourt et al., 2014).

Essa tecnologia também se mostrou efetiva na conservação de peras, uma vez que seu revestimento com amido incorporado com lactato de sódio e L-

cisteína reduziu o escurecimento enzimático e o desenvolvimento microbiano, bem como aumentou a firmeza dos frutos ao longo do tempo de armazenamento (Botrel et al., 2010).

### *Considerações finais*

O uso de SLC de compostos ativos nas mais diversas áreas de aplicação, em especial na agricultura, tem se mostrado de grande viabilidade, uma vez que pode reduzir número de aplicações de fertilizantes e pesticidas, aumenta a produtividade e contribui de forma eficiente para o desenvolvimento sustentável.

Em uma busca realizada por Fernandes et al. (2014), apenas para fertilizantes de liberação lenta a base de ureia, havia até a data da pesquisa um total de 232 patentes sendo que a China detinha o maior número, seguida dos Estados Unidos e Japão, e que o Brasil não detinha nenhuma.

Dos materiais usados para revestimento, a grande maioria era polimérica, sendo alguns biodegradáveis e outros não e que apenas uma minoria das patentes era depositada pelo setor acadêmico (12%), enquanto que as empresas e as pesquisas independentes depositaram, respectivamente, 71% e 17%.

Constatou-se também que o início dos registros de patentes nessa área ocorreu em meados da década de 60, permanecendo no mesmo nível até o ano de 2006, quando então passou a haver um

elevado crescimento. Portanto, representam atualmente um setor de grande avanço tecnológico, e ao mesmo tempo, com grande possibilidade de exploração nos próximos anos.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o mundo terá nove bilhões de habitantes em 2050, sendo o abastecimento da população mundial uma das principais metas estabelecidas por esta organização. Para acompanhar este crescimento, será necessário produzir mais alimentos e o Brasil terá que aumentar sua oferta em 40%, até lá, para contribuir com este desafio (FAO, 2017).

Todavia, se por um lado há a necessidade de alimentar toda essa população, por outro há o aumento das restrições com relação à incorporação de novas áreas de plantio sob o ponto de vista ambiental, seja por restrições legais ou maior conscientização da população.

Desta forma, não há dúvidas de que o Brasil exercerá papel de protagonismo no cenário mundial, uma vez que tem sido um dos principais fornecedores mundiais de alimentos, e um dos poucos países em condições de ampliar a oferta de forma sustentável, ou seja, sem precisar desmatar novas áreas, graças à tecnologia de que dispõe para um aumento crescente de produtividade.

Por fim, deve-se destacar o grande potencial que o Brasil apresenta no segmento de materiais biodegradáveis de fontes renováveis para aplicação na agricultura, seja para produção de materiais

poliméricos de liberação controlada de compostos ativos ou para outras aplicações, pois dispõe de clima e área para produção da matéria prima renovável e de baixo custo, bem como de diversos grupos qualificados capazes de realizar pesquisas e novos desenvolvimentos neste setor.

### *Referências*

BACCARIN, M.F.; BACALHAU, F.B.; PEREIRA, T.S.; FAEZ, R.; SOUZA, C.F. Monitoramento in situ da liberação controlada de fertilizantes na cultura do alface. **XLIV Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2015**, 13 a 17 de setembro de 2015, São Pedro, SP, Brasil.

BAYS, R.; BAUDET, L.; HENNING, A.A.; FILHO, O.L. Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímero. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 60-67, 2007.

BITENCOURT, R.G.; POSSAS, A. M.M.; CAMILLOTO, G.P.; CRUZ, R.S.; OTONI, C.G.; SOARES, N.F.F. Antimicrobial and aromatic edible coating on fresh-cut pineapple preservation. **Ciência Rural**, v. 44, n. 6, p. 1119-1125, 2014.

BORTOLETTO-SANTOS, R.; POLITO, W.L.; RIBEIRO, C. Estudo da liberação controlada de ureia usando poliuretana. **Anais do II Simpósio Nacional de Instrumentação**, São Carlos, SP, 2014.

BOTREL, D.A.; SOARES, N.F.F.; CAMILLOTO, G.P.; FERNANDES, R.V.B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams

minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1814-1820, 2010.

CHIELLINI, E.; CINELLI, P.; CORTI, A.; KENAWY, E.R.; FERNANDES, E.G.; SOLARO, R. Environmentally sound blends and composites based on water-soluble polymer matrices. **Macromolecular Symposia**, v. 152, n. 1, p. 83-94, 2000.

CORRÊA, S.J.P. **Utilização de filmes a base de pectina contendo extrato de própolis vermelha para recobrimento de sementes de girassol**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Departamento de Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes, Aracaju, p. 80, 2011.

DAITX, T.D.S. **Obtenção e caracterização de sistemas poliméricos biodegradáveis de poli(hidroxibutirato) (phb) utilizados na liberação controlada de fertilizantes do tipo NPK**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 103, 2016.

DALL'AGNOL, E.C.; SUAVE, J.; MEIER, M.M.; SOLDI, V.; SILVA, D.A.K.; PEZZIN, A.P.T. Microencapsulação do pesticida cipermetrina em blendas de P(3HB/PCL): caracterização e ensaio de liberação in vitro. **Polímeros**, v. 26, n. 3, p. 269-276, 2016.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMEZEZ, A.; UMÑOZ, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-303, 2011.



FAO - **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**. Disponível em <<http://www.fao.org/brasil/pt/>>. Acessado em 16 de outubro de 2015.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. Micronutrient application through seeds treatments – a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 125-142, 2012.

FERNANDES, B.S.; CASTRO, I.S.; ALBUQUERQUE, E.C.M.C.; FIALHO, R.L. Fertilizantes de liberação lenta à base de ureia. **Cadernos de Prospecção**, v. 7, n. 1, p. 73-79, 2014.

FUNABASHI, M.; NINOMIYA, F.; KUNIOKA, M. Biodegradability Evaluation of Polymers by ISO 15855-2. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 8, p. 3635-3654, 2009.

GONÇALVES, S.P.C.; CAMPOS, A.; MARTINS-FRANCHETTI, A.M. Influência da geometria e umidade de colunas de solo na biodegradação de filmes de PCL. **Polímeros**, v. 21, n. 2, p. 107-110, 2011.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer. **European Polymer Journal**, v. 49, n.6, p. 1215-1233, 2013.

JIA, X.; MA, Z.Y.; ZHANG, G.X.; HU, J.M.; LIU, Z.Y.; WANG, H.Y.; ZHOU, F. Polydopamine film coated controlled-release multielement compound fertilizer based on ussel-inspired chemistry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 12, p. 2919–2924, 2013.

KANDIL, S.; KENAWY, E.R.; EL-MAGHRABY, A.; ELASHRY, E.H. Controlled release of 2-Methyl-4-

chlorophenoxy acetic acid herbicide from waste gelatin-based blends and composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 94, n. 4, p. 1420–1427, 2004.

LEJA, K.; LEWANDOWICZ, G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers – a review. **Polish Journal of Environment Study**, v. 19, n. 2, p. 255-266, 2010.

LOTTO, N. T.; CALIL, M. R.; GUEDES, C. G. F.; ROSA, D. S. The effect of temperature on the biodegradation test. **Materials Science and Engineering**, v. 24, n. 5, p. 659-662, 2004.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J.E. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 429-442, 2008.

MAJEED, Z.; RAMLI, N.K.; MANSOR, N.; MAN, Z. A comprehensive review on biodegradable polymers and their blends used in controlled-release fertilizer processes. **Reviews in Chemical Engineering**, v. 31, n. 1, p. 69-95, 2015.

NEGORO, S. Biodegradation of nylon oligomers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, n. 4, p. 461-466, 2000.

OLIVEIRA, J.C.; MACEDO, W.R.; LIMA, E.L.F.; SOUZA, D.S.; MORAES, A.R.F.; SILVA, G.H. Efeitos do uso de polímeros e antioxidantes na brotação de mini-toletes e crescimento da cana de açúcar. Anais do **II Simpósio de Ecofisiologia Sistêmica**, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2016.

PENG, Z.; CHEN, F. Synthesis and properties of lignin-based polyurethane hydrogels. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 60, n. 9, p. 674–683, 2011.

PETRIKOSKI, A. P.; BORGES, R.; MARQUES, P. T.; FUKAMACHI, C. R. B. Estudos preliminares do desenvolvimento de um fertilizante de liberação lenta de nitrogênio recoberto a partir de fonte biodegradável de polímero. **Synergismus Scientifica**, v. 6, n. 1, 2011.

PELLICANO, M.; PACHEKOSKI, W.; AGNELLI, J.A.M. Influencia da adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBV/Ecoflex®. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 212-217, 2009.

PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W.R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C.D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs “Royal Gala” minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 253-264, 2013.

PULS, J.; WILSON, S.A.; HOLTER, D. Degradation of cellulose acetate-based materials: a review. **Journal of Polymer and the Environment**, v. 19, n. 1, p. 152-165, 2011.

ROJAS-GRAU, M.A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 10, p. 438-447, 2009.

SANTOS, F.C.; OLIVEIRA, J.A.; PINHO, E.V.R.V.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R. Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 69-78, 2010.

SHARMA, K.K.; SINGH, U.S.; SHARMA, P.; KUMAR, A.; SHARMA, L. Seed treatments for sustainable agriculture - A review. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 7, n. 1, p. 521 – 539, 2015.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Use of essential oils in bioactive edible coatings. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 1, p. 1–16, 2011.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M.D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.



# 2

## **BIOENSAIOS PARA A SELEÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS ATIVOS CONTRA INSETOS**

**Geraldo Andrade Carvalho** <sup>(1)</sup>

**Dejane Santos Alves** <sup>(2)</sup>

**Denilson Ferreira de Oliveira** <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras – *Campus* Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: gacarval@den.ufla.br.

<sup>(2)</sup> Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Santa Helena, 85982-000, Santa Helena, PR, Brasil. E-mail: dejanealves@utfpr.edu.br. <sup>(3)</sup> Departamento de Química,

Universidade Federal de Lavras – *Campus* Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: denilson@dqj.ufla.br.

### *Introdução*

Plantas e insetos fitófagos coexistem há mais de 350 milhões de anos e durante esse período ambos desenvolveram estratégias para vencer o sistema de defesa um do outro. As plantas, sendo sesséis, sofreram mutações que permitiram a síntese de substâncias químicas denominadas metabólitos secundários, os quais são responsáveis por conferir maior valor adaptativo a esses organismos. Os metabólitos secundários não estão diretamente envolvidos no crescimento das plantas, entretanto são

conhecidos por constituírem um excelente sistema de defesa contra a herbivoria.

Os relatos do uso de produtos do metabolismo secundário de plantas para o controle de insetos são anteriores a era cristã (Pavela, 2016). Os inseticidas botânicos tiveram um papel crucial para o controle de artrópodes pragas, sendo que em 1947 mais de 6.700 toneladas de raízes de *Derris elliptica* (Roxb.) Benth. (Fabaceae) foram importadas do sudeste da Ásia para os Estados Unidos da América, com o objetivo de serem empregadas para o controle de insetos; todavia, no ano de 1963 essa quantidade foi reduzida para apenas 1.500 toneladas (Wink, 1993), pois com o advento dos inseticidas químicos sintéticos, estes passaram a ser empregados em larga escala. Em consequência, os problemas oriundos do uso indiscriminado de pesticidas não demoraram a aparecer, sendo que na década de 60, Rachel Carson em seu livro "Primavera Silenciosa", relatou os problemas ambientais e de saúde pública causados pelo uso do inseticida DDT.

No cenário atual são inúmeros os relatos dos malefícios advindos do uso indiscriminado de pesticidas sintéticos, tais como contaminação ambiental (Albuquerque et al., 2016; Vieira et al., 2016; Mansouri et al., 2017), resíduos nos alimentos (Cantarutti et al., 2008; Caldas et al., 2011; Avancini et al., 2013) e seleção de populações de insetos resistentes (Silva et al., 2016; Ribeiro et al., 2017). Destaca-se ainda a toxicidade dos pesticidas a insetos não alvos, tais como inimigos naturais (Moscardini et



al., 2015; Maia et al., 2016; Wanumen et al., 2016; Bueno et al., 2017) e polinizadores (Baptista et al. 2009; Carvalho et al. 2009; Beneteau et al. 2012). Assim, faz-se de extrema importância a busca constante por substâncias que possam ser empregadas para o controle de insetos pragas e que causem menor impacto ambiental, visando uma agricultura mais sustentável.

Nesse sentido, os metabólitos secundários podem ser empregados na forma de extratos, os quais são preparados na própria lavoura, sendo esse uso restrito a propriedades destinadas à agricultura familiar (Dietrich et al., 2011; Sousa et al., 2012) ou ainda, os extratos podem ser manufaturados e comercializados. Atualmente, no Brasil existem apenas dois inseticidas botânicos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de insetos, sendo esses o Azamax<sup>®</sup> e a Bioisca<sup>®</sup> (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2017). Destaca-se que a Bioisca<sup>®</sup> é o primeiro inseticida botânico comercializado mundialmente para o controle de formigas cortadeiras. Outra abordagem é que os metabólitos secundários de plantas podem servir como moléculas modelos para a síntese de novos produtos bioativos (Xu et al., 2016). Um exemplo clássico são os piretróides que foram desenvolvidos na década de 70 a partir das piretrinas oriundas de flores de crisântemo.

Dada a importância pela busca por substâncias naturais que apresentem toxicidade para insetos,



nesse capítulo serão abordadas as principais metodologias empregadas para a seleção de compostos bioativos para insetos pragas.

### *Obtenção dos extratos vegetais*

No processo de seleção de compostos bioativos, a obtenção dos extratos é a primeira etapa. Precedendo ao preparo do extrato, é necessário atentar para a coleta do material vegetal, que deve ser acompanhada por um botânico a fim de garantir a correta identificação do material. Também é fundamental o depósito de exsicatas das plantas em herbário.

Os pesquisadores dessa área do conhecimento, muitas vezes não se atentam para a legislação vigente, o que pode gerar problemas, visto que essa atividade de pesquisa é classificada como acesso ao patrimônio genético e por isto deve ter autorização dos órgãos competentes. Até o ano de 2015, o acesso ao patrimônio genético era regulamentado pela Medida Provisória nº 2.186-16. De acordo com essa medida provisória, a autorização para acesso, com fins de pesquisa científica, era concedida pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), ou pelas instituições a ele credenciadas, tais como, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

Entretanto, a supracitada medida provisória foi revogada e atualmente encontra-se em vigor a Lei nº 13.123/2015, pela qual a autorização para acesso ao patrimônio genético é concedida por meio do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). Todavia, o SisGen ainda não foi implementado pela Secretaria Executiva do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (Cgen) e desta forma, a orientação atual é que as atividades podem ser iniciadas mesmo sem a disponibilização do cadastro (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, 2017). Entretanto, é necessário estar atento às novas diretrizes, uma vez que estão em constantes mudanças.

Uma vez realizada a coleta do material vegetal é feito o preparo dos extratos, sendo que alguns pesquisadores empregam o material fresco e outros optam pelo material seco. Os pesquisadores do nosso grupo de pesquisa têm optado pelo material seco, sendo coletada maior quantidade de material botânico que após secagem, prepara-se apenas uma pequena porção do extrato para os testes iniciais, sendo o restante armazenado para testes posteriores. Essa estratégia é importante porque as plantas apresentam variação na produção de metabólitos secundários de acordo com fatores bióticos e abióticos (Ben Ahmed et al., 2017) e também deve-se ressaltar a existência de quimiotipos (Yarmoohammadi et al., 2017). Desta forma, a realização de uma única coleta para os bioensaios iniciais é importante para

evitar grandes alterações dos constituintes presentes no extrato vegetal. Em etapas posteriores pode ser estudada, por exemplo, a influência da variação sazonal, geográfica ou intraespecífica na produção de metabólitos secundários pelas plantas.

Para a extração dos metabólitos secundários várias técnicas estão disponíveis, tais como maceração, decocção, percolação, sonificação, extração por fluido supercrítico, entre outras (Swami et al., 2008). A mais comumente usada pelos pesquisadores de nosso grupo é a maceração a frio. A escolha do solvente a ser empregado depende do objetivo do trabalho, sendo que solventes apolares, tal como hexano, podem ser empregados quando se deseja direcionar a extração para substâncias lipofílicas, a exemplo dos triterpenos (Duprat et al., 2017). Quando o objetivo é realizar uma análise exploratória, o uso de solventes tais como o metanol é mais aconselhado, pois possibilita a extração de compostos polares e apolares (Grycová et al., 2007; Quiroz et al., 2015). O etanol também pode ser empregado e apresenta a vantagem de ser menos tóxico ao pesquisador do que o metanol. Entretanto, possui maior ponto de ebulição, sendo mais difícil a sua remoção em evaporador rotatório. O uso de extratos aquosos não é aconselhável quando se deseja isolar o composto ativo, em função das dificuldades cromatográficas encontradas ao se trabalhar com esse tipo de extrato.

O processo de extração dos metabólitos secundários pode ainda ser direcionado visando a

extração de grupo específico de substâncias, tais como acetogeninas, alcaloides, taninos entre outros. Para a extração de acetogeninas o extrato bruto alcoólico pode ser submetido à partição líquido-líquido empregando-se água e diclorometano. Caso estejam presentes, as acetogeninas serão solúveis na fração de diclorometano (Álvarez-Colom et al., 2009; Yang et al., 2015). Ao passo que para extração de frações enriquecidas com alcaloides, um dos métodos disponíveis é a extração ácido-base empregando-se partições sequenciais líquido-líquido (Grycová et al., 2007). Para a obtenção de taninos, pode ser empregado como meio extrator acetona:água, sendo que após a remoção da acetona em evaporador rotatório, a fase aquosa pode ser submetida à partição com butanol (Simões et al., 2010; Tirelli et al., 2010).

### *Seleção de extratos ativos para insetos*

Inúmeras metodologias podem ser empregadas para avaliar a toxicidade de extratos vegetais para insetos, em geral, os métodos a serem selecionados dependem das características da espécie que foi escolhida para o estudo e da infraestrutura disponível. Em alguns casos, são empregadas populações de insetos coletados diretamente no campo, o que representa um sério problema. Haja vista, que existem inúmeras fontes de variação, tais como a idade desuniforme dos espécimes e a possível exposição prévia a agroquímicos. Assim, o primeiro passo deve ser o estabelecimento da criação dos insetos em

laboratório, e mesmo assim muitos pesquisadores não atentam para o uso de insetos de idade uniforme, o que prejudica a repetibilidade dos ensaios e a confiabilidade dos dados obtidos.

Uma vez que os extratos são obtidos e dispõem-se de insetos de mesma idade para a condução dos bioensaios deve-se fazer *screening* com vistas a selecionar os extratos que apresentem atividade inseticida mais promissora. Nesses tipos de ensaios, pode ser empregada apenas uma concentração do extrato que é determinada em função da espécie, objeto de estudo; dos dados disponíveis na literatura e de ensaios prévios realizados pelos pesquisadores. De forma geral, depois que se selecionam os extratos mais promissores, novos ensaios devem ser conduzidos com o objetivo da construção de curvas dose-resposta ou concentração-resposta.

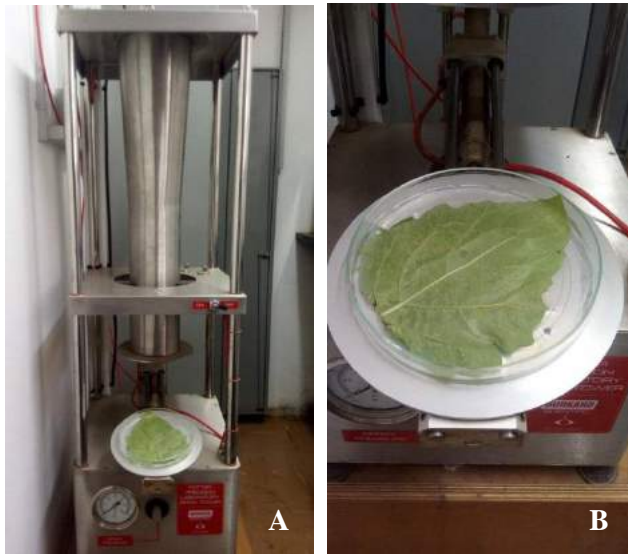
Os ensaios de *screening* mais comumente usados são por meio de testes de aplicação tópica (Gomes et al., 2016) ou ingestão de alimento contendo o extrato vegetal pelos insetos (Alves et al., 2012; Carvalho et al., 2015). Em ambos os casos, recomenda-se que a avaliação seja feita ao longo do tempo, sendo a variável resposta a mortalidade. O intervalo de tempo para condução dos bioensaios, bem como para a seleção do período entre cada avaliação é em função da espécie-alvo.

Os ensaios de aplicação tópica apresentam como vantagem o uso de pequena quantidade de extrato vegetal, que geralmente é solubilizado em um solvente volátil e aplicado em pequeno volume (1  $\mu$ L)

no dorso do inseto com auxílio de microseringa (Figura 1) (Santos et al., 2013). A acetona é o solvente mais comumente usado, pois apresenta alta volatilidade, evaporando-se rapidamente e desta forma somente o extrato permanece no dorso do inseto. A aplicação tópica também pode ser realizada por meio de pulverização em torre de Potter (Figura 2) (Costa et al., 2015) ou com auxílio de aerógrafo acoplado a compressor de ar (Ferreira et al., 2012). Entretanto, maior quantidade de extrato botânico é requerida nessas técnicas. Além disso, vale ressaltar que resultados promissores em ensaios de aplicação tópica, empregando extratos, estão limitados ao fato de que os metabólitos necessitam apresentar características de lipofilicidade que permitam a sua penetração no tegumento do inseto.



**Figura 1.** Aplicação tópica de extrato vegetal com microseringa no dorso do tórax de formiga cortadeira.



**Figura 2.** Aplicação de extrato vegetal sobre folha contendo pulgões por meio de torre de Potter (A); Detalhe da placa com folha contendo pulgões (B).

Em se tratando de ensaios que visem a ingestão dos extratos, a maneira mais prática é que seja incorporado em dieta artificial (Figura 3) e oferecido ao inseto (Alves et al., 2014). Nos casos em que o inseto não é mantido em dieta artificial, mas em seu substrato alimentar natural (por exemplo, folhas), o extrato deve ser solubilizado em um solvente adequado e que não apresente fitotoxicidade à planta (Nakai & Wang, 2012). Nesse último caso tem-se como desvantagem a necessidade de maior quantidade de extrato para realização dos testes biológicos.

Para incorporar o extrato em dieta artificial ou no substrato alimentar do inseto, o mesmo deve ser solubilizado em um solvente apropriado. O uso de solventes orgânicos, tais como acetona e metanol

## A Química na Produção Vegetal

para esse fim, é relatado em literatura. Entretanto, é necessária a eliminação completa do solvente da dieta antes de oferecer para o inseto, que deve ser realizada por meio de evaporador rotatório. Essa técnica já foi empregada com sucesso para condução de bioensaios com formigas cortadeiras, assim os extratos foram solubilizados em metanol, incorporados à polpa cítrica e o solvente foi removido com o emprego de evaporador rotatório (Santos, 2013). Todavia, quando são empregadas dietas artificiais que solidificam muito rapidamente, muitos pesquisadores optam por realizar a evaporação do solvente à temperatura ambiente, que é variável e pode comprometer a repetibilidade dos ensaios e confiabilidade dos dados obtidos. Uma opção para contornar esse problema é solubilizar o extrato em solução aquosa contendo um surfactante, como por exemplo, o Tween<sup>®</sup>.

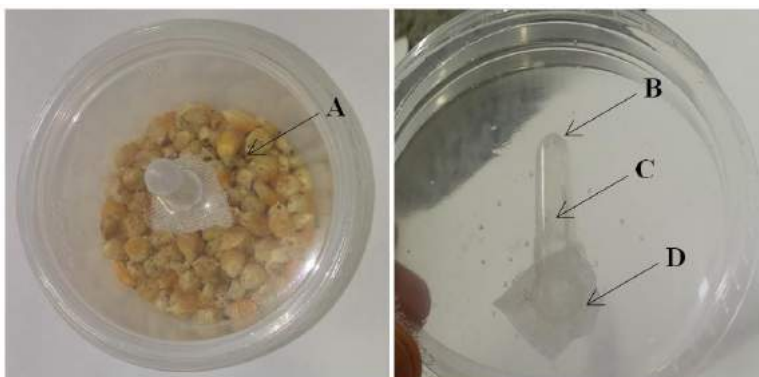


**Figura 3.** Incorporação de extratos vegetais em dieta artificial para realização de bioensaio com *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).



Em se tratando de insetos que são pragas em ambientes confinados, tais como as pragas de grãos armazenados, a metodologia mais amplamente usada é a realização de ensaios de fumigação (Ribeiro et al., 2015). Para isso, o extrato é solubilizado em um solvente volátil (sendo o mais comum a acetona) e aplicado em um substrato, como por exemplo, uma seção de papel-filtro. Após a evaporação do solvente, o substrato com o extrato deve ser transferido para o recipiente contendo o inseto. Destaca-se que o inseto não deve entrar em contato direto com o substrato (Figura 4).

Qualquer que seja o ensaio escolhido, o emprego de controle positivo é ainda discutido entre os pesquisadores. Alguns defendem a necessidade do uso de um inseticida sintético, registrado para o controle da praga em estudo, a fim de comparação da eficiência do extrato botânico. Entretanto, outros pesquisadores acreditam que não tem fundamento comparar a eficiência de um inseticida botânico, com modo de ação incerto, com aquela de um inseticida sintético. Segundo esses autores, se por exemplo o extrato vegetal atuar no sistema endócrino do inseto, a comparação com um inseticida que atue no sistema nervoso torna-se meramente especulativa. Assim, alguns pesquisadores defendem que o controle positivo seja usado em etapas posteriores, quando se tem conhecimento do modo de ação do inseticida botânico, bem como da substância ativa.



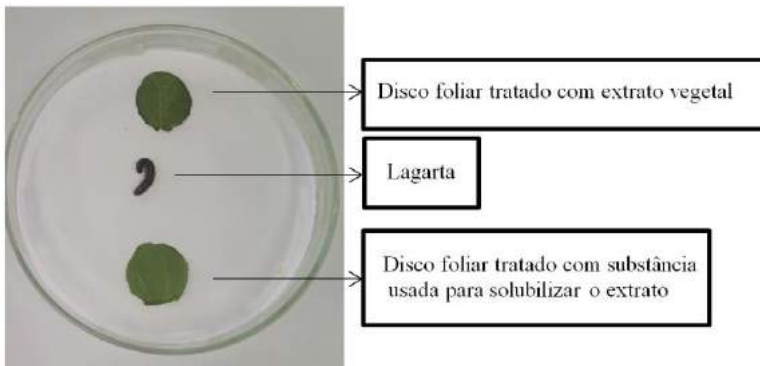
**Figura 4.** Recipiente contendo grãos de milho infestados com gorgulho e eppendorf para avaliar o efeito da fumigação de extratos botânicos (A); Eppendorf (B); Papel-filtro contendo extrato (C) e *voile* (D).

Uma vez que seja verificada a atividade inseticida do extrato vegetal é necessária a obtenção de curvas dose-resposta ou concentração-resposta. Para isso, são selecionadas faixas de concentração ou dose por meio de testes prévios, que causem valores de mortalidade que permitam o cálculo das concentrações e/ou doses letais ( $CL_{25}$  e/ou  $DL_{25}$ ,  $CL_{50}$  e/ou  $DL_{50}$  e  $CL_{90}$  e/ou  $DL_{90}$ ) (Finney, 1971).

Além disso, ensaios complementares que possibilitem fazer inferências sobre o modo de atuação dos metabólitos secundários são necessários. Destacam-se ensaios com o objetivo de avaliar os efeitos dos extratos no comportamento (Alves et al., 2011; De Melo et al., 2015), reprodução (Ventrella et al., 2016) e alimentação dos insetos (Abdullah et al., 2015).

Em se tratando do efeito de extratos no comportamento alimentar dos insetos, podem ser conduzidos testes sem chance de escolha, nos quais

os insetos permanecem confinados e só apresentam a opção de se alimentarem com o substrato contendo o extrato. Dessa forma é possível mensurar o peso do alimento consumido, ganho de peso do inseto e em alguns casos, dependendo do inseto usado no estudo, a quantidade de excrementos. De posse desses dados é possível calcular: o índice de consumo; taxa metabólica relativa; eficiência de conversão do alimento ingerido; eficiência de conversão do alimento digerido; digestibilidade aproximada e custo metabólico (Waldbauer, 1968, Slansky & Scriber, 1985). Também podem ser conduzidos ensaios com chance de escolha, assim, são construídas arenas, e os insetos são liberados no centro da mesma. É oferecido aos insetos o substrato alimentar contendo o extrato vegetal e sem o extrato vegetal, os quais são dispostos equidistantemente (Figura 5). Assim possível determinar o índice de deterrência alimentar.



**Figura 5.** Arena empregada para a realização de ensaio de preferência alimentar com chance de escolha.

Ensaio bioquímico, visando avaliar a inibição de processos enzimáticos, podem prover importantes

informações (Ramos et al., 2013; Maazoun et al., 2017). Um ensaio relativamente simples é o da inibição da enzima tripsina *in vitro*. Nosso grupo de pesquisa constatou atividade de inibição da enzima tripsina de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) causado pelos tratamentos com os extratos de *Copaifera langsdorffii* (Desf.) Kuntze (Fabaceae) e *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) (Alves et al., 2012; Rossi et al., 2012; Ramos et al., 2013). Outros ensaios enzimáticos também podem ser conduzidos, a exemplo da inibição da enzima acetilcolinesterase. Nesse sentido, Oliveira (2016) verificou a toxicidade do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. (Poaceae) e de seu componente majoritário, o citral, para *S. frugiperda*. Adicionalmente foram conduzidos ensaios *in vitro* que possibilitaram verificar que o óleo essencial de *C. flexuosus* e o citral causaram a inibição da enzima acetilcolinesterase, *in vitro*.

Os bioensaios mais comumente empregados para a busca de metabólitos de plantas ativos para insetos foram sumarizados na Tabela 1.

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 1.** Bioensaios mais comumente usados para a busca de metabólitos de plantas ativos para insetos.

Bioensaios	Referências
Alterações histológicas.	Roel et al., 2010; Rawi et al., 2011; Mansour & Abdel-Hamid, 2015.
Alterações no crescimento de desenvolvimento de insetos.	Huang et al., 2014; Nebapure & Srivastava, 2014; Selin-Rani et al., 2016.
Atividade anti-alimentar.	Yadav et al., 2014; Abdullah et al., 2015; Jackowski et al., 2015; Pan et al., 2016.
Bioensaios de fumigação.	Athanassiou et al., 2014; Yi et al., 2015; Şimşek et al., 2017.
Bioensaios para verificar o efeito de metabólitos secundários no comportamento de oviposição.	Alves et al., 2011; Jide-Ojo & Ojo, 2011; Fand et al., 2012.
Ensaio para avaliar o efeito repelente de metabólitos secundários.	Madkour et al., 2013; Padín et al., 2013; Wei et al., 2014; Aryani & Auamcharoen, 2016; Cespedes et al., 2016.
Inibição de processos enzimáticos.	Napoleão et al., 2013; Abd El-latif, 2014; Mittal et al., 2014.
Toxicidade por contato.	Ge et al., 2015; Aryani & Auamcharoen, 2016; Lü & Ma, 2015.
Toxicidade por ingestão.	Ansante et al., 2015; Alves et al., 2016; Souza et al., 2017.

### *Isolamento e identificação de compostos ativos*

O processo de isolamento de substâncias presentes em uma mistura é baseado em técnicas cromatográficas. A cromatografia, por sua vez, fundamenta-se no diferente grau de afinidade de uma substância por uma fase móvel (solvente) e uma fase estacionária. Maiores informações acerca desse assunto podem ser obtidas no capítulo intitulado

“Identificação de Compostos Bioativos”, que consta nesse livro.

No contexto de isolamento dos compostos bioativos, várias abordagens podem ser empregadas, com destaque para o fracionamento biodirecionado. Nesse caso o extrato é submetido a técnicas de fracionamento e as frações resultantes são imediatamente empregadas em ensaios biológicos. As frações ativas são selecionadas para as etapas posteriores de fracionamento. O fracionamento biodirecionado apresenta a vantagem de rastrear os metabólitos ativos. Entretanto, requer testes biológicos rápidos e que exijam pouca quantidade de material, o que nem sempre é possível.

Um método menos dispendioso é isolar os componentes majoritários e no final do processo submetê-los aos ensaios biológicos. A grande desvantagem é a incerteza de que os compostos majoritários não sejam os responsáveis pela atividade biológica. Além disso, existe a possibilidade de que o extrato apresente mais de uma substância ativa e que as mesmas atuem no organismo de forma sinérgica.

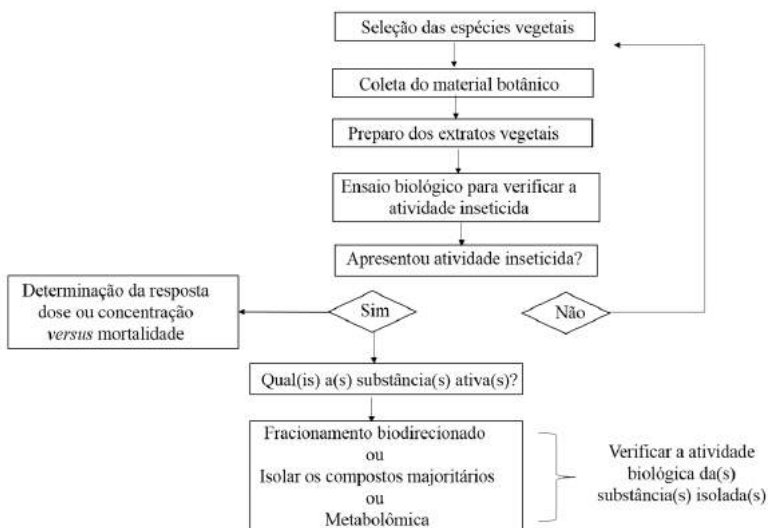
Mais recentemente, uma técnica empregada com sucesso é a metabolômica, que possibilita a identificação de metabólitos ativos em uma matriz complexa. A metabolômica pode ser definida como um conjunto de dados qualitativos e quantitativos abrangendo todos os metabólitos de uma determinada matriz de origem biológica. Essa é considerada uma das mais avançadas abordagens sobre o mapeamento químico da biodiversidade de

um organismo (Funari et al., 2013). Tal abordagem permite, por exemplo, sugerir qual metabólito é o responsável por determinada atividade biológica sem a necessidade de um isolamento prévio, o que nos casos de compostos já conhecidos, permite economia considerável de tempo.

A supracitada técnica já foi empregada com sucesso pelo nosso grupo de pesquisa (Alves et al., 2016). Tais autores constataram alta atividade inseticida da fração solúvel em diclorometano proveniente das cascas do caule de diferentes espécimes de *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil. (Annonaceae). Desta forma, foi conduzida a análise exploratória do perfil metabólito dessa planta, empregando-se ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ). Em seguida, procedeu-se a análise multivariada sendo as variáveis os deslocamentos químicos e intensidade dos sinais obtidos por RMN de  $^1\text{H}$  e atividade biológica para *S. frugiperda*. Isto possibilitou a distinção dos deslocamentos químicos possivelmente responsáveis pela atividade biológica e, pôde-se inferir que a substância responsável pela atividade biológica seria o 2,4,5-trimetoxiestireno. Paralelamente, os autores também procederam o fracionamento de *D. lanceolata* o que permitiu o isolamento da *trans*-asarona, 2,4,5-trimetoxiestireno e mais três alcaloides aporfinicos, que foram submetidos a ensaios com *S. frugiperda*. Foi constatado que as substâncias *trans*-asarona e 2,4,5-trimetoxiestireno foram ativos para *S. frugiperda*; entretanto o 2,4,5-trimetoxiestireno foi

mais tóxico, confirmando os resultados obtidos por meio de análises do perfil metabólico (Alves, 2014).

Uma breve descrição das principais atividades envolvidas no processo de busca por metabólitos de plantas ativos para insetos é sumarizada na Figura 6.



**Figura 6.** Esquema simplificado das principais etapas na busca por metabólitos de plantas ativos para insetos.

## Perspectivas

Conforme evidenciado ao longo do texto, a busca por substâncias de origem vegetal ativas para insetos é um processo complexo e necessita sempre de uma equipe multidisciplinar. Destaca-se a importância de que a equipe seja constituída por botânicos, entomologistas e químicos, a fim de garantir a correta identificação do material botânico, condução dos ensaios biológicos e identificação das



substâncias ativas. Salienta-se que em um artigo de opinião publicado por Isman & Grieneisen (2014), o qual foi intitulado “Botanical insecticide research: many publications, limited useful data”, os autores realizaram um levantamento acerca do número de artigos publicados nessa temática, no período de 1980 a 2012. Entre os países que lideraram o *ranking* de publicações, o Brasil encontra-se em terceiro lugar, atrás da Índia e China. Quando os autores discorreram acerca da real contribuição advindas dessas publicações, um dos fatores apontados é a falta de informações a respeito da caracterização química dos inseticidas botânicos (Isman & Grieneisen, 2014).

Apesar do mercado brasileiro atualmente contar com apenas dois inseticidas botânicos registrados no MAPA, esse cenário tende a mudar. Atualmente, o MAPA vem trabalhando no sentido de flexibilizar o processo de registro para produtos que possam ser utilizados em sistemas orgânicos de cultivo. Quanto ao mercado mundial existem perspectivas de que até 2025, os inseticidas botânicos respondam por cerca de 7% do mercado de biopesticidas (Isman, 2015).

Em se tratando ainda, especificamente do Brasil, pode-se destacar o enorme potencial para descoberta de novas moléculas. É possível mencionar que já foram elucidadas mais de 50.000 estruturas químicas provenientes do metabolismo de plantas, sendo estimado que o número total exceda 100.000 estruturas (Wink, 2006). Todavia, apenas uma parcela insignificante teve sua atividade inseticida avaliada.

Considerando ainda que a região Neotropical abriga cerca de 90.000 – 110.000 espécies de plantas (Stoll & Squeo, 2012), tamanha diversidade nos permite projetar o enorme potencial da região para a prospecção de metabólicos secundários ativos para insetos pragas.

### *Referências*

ABD EL-LATIF, A.O. In vivo and in vitro inhibition of *Spodoptera littoralis* gut-serine protease by protease inhibitors isolated from maize and sorghum seeds. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 116, p. 40-48, 2014.

ABDULLAH, F.; SUBRAMANIAN, P.; IBRAHIM, H.; ABDUL MALEK, S.N.; LEE, G.S.; HONG, S.L. Chemical composition, antifeedant, repellent, and toxicity activities of the rhizomes of galangal, *Alpinia galanga* against asian subterranean termites, *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 7, p.175, 2015.

ALBUQUERQUE, A.F.; RIBEIRO, J.S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A.J.A.; MONTAGNER, C.C.; UMBUZEIRO, G.A. Pesticides in Brazilian freshwaters: A critical review. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 18, n.7, p. 779-787, 2016.

ÁLVAREZ COLOM, O; NESKE, A.; CHAHBOUNE, N.; ZAFRA-POLO, M.C.; BARDÓN, A. Tucupentol, a novel mono-tetrahydrofuranic acetogenin from *Annona montana*, as a potent inhibitor of

mitochondrial complex I. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, n. 3, p. 335-340, 2009.

ALVES, A.P.C.; CORRÊA, A.D.; ALVES, D.S.; SACZK, A.A.; LINO, J.B.R.; CARVALHO, G.A. Toxicity of the phenolic extract from jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 2, p. 200-204, 2014.

ALVES, D.S. **Prospecção de metabólicos de anonáceas ativos para *Spodoptera frugiperda* e *Tetranychus* spp.** Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, p. 262. 2014.

ALVES, D.S.; CARVALHO, G.A.; OLIVEIRA, D.F.; SAMIA, R.R.; VILAS BOAS, M.A.; CARVALHO, G.A.; CÔRREA, A.D. Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 6578-6591, 2012.

ALVES, D.S.; MACHADO, A.R.T.; CAMPOS, V.A.C.; OLIVEIRA, D.F.; CARVALHO, G.A. Selection of Annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.

ALVES, D.S.; OLIVEIRA, D.F.; CARVALHO, G.A.; SANTOS JR, H.M. DOS; CARVALHO, D.A.; SANTOS, M.A.I.; CARVALHO, H.W.P. DE. Plant extracts as an alternative to control *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 123-128, 2011.

ANSANTE, T.F.; RIBEIRO, L.P.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 969–976, 2015.

ARYANI, D.S.; AUAMCHAROEN, W. Repellency and contact toxicity of crude extracts from three Thai plants (Zingiberaceae) against maize grain weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Biopesticides**, v. 9, n. 1, p. 52-62, 2016.

ATHANASSIOU, C.G.; RANI, P.U.; KAVALLIERATOS, N.G. The use of plant extracts for stored product protection. In: SINGH, D. (Ed). **Advances in Plant Biopesticides**. New Delhi: Springer India, 2014. p. 131-147.

AVANCINI, R.M.; SILVA, I.S.; ROSA, A.C.S.; SARCINELLI, P.D.N.; DE MESQUITA, S.A. Organochlorine compounds in bovine milk from the state of Mato Grosso do Sul – Brazil. **Chemosphere**, v. 90, n. 9, p. 2408-2413, 2013.

BAPTISTA, A.P.M.; CARVALHO, G.A.; CARVALHO, S.M.; CARVALHO, C.F.; BUENO-FILHO, J.S. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 955-961, 2009.

BEN AHMED, Z.; YOUSFI, M.; VIAENE, J.; DEJAEGHER, B.; DEMEYER, K.; MANGELINGS, D.; VANDER HEYDEN, Y. Seasonal, gender and regional

variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. leaves. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n.1, p. 1185-1194, 2017.

BENETEAU, A.B.; CARVALHO, S.M.; BRUNET, J.; CARVALHO, G.A.; BULETE, A.; GIROUD, B.; BELZUNCES, L.P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 82, p. 22-31, 2012.

BUENO A.F.; CARVALHO G.A.; SANTOS A.C.; SOZA-GOMEZ, D.R.; SILVA, D.M. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v. 47, n. 6, p.1-10, 2017.

CALDAS, E.D.; DE SOUZA, M.V.; JARDIM, A.N.O. Dietary risk assessment of organophosphorus and dithiocarbamate pesticides in a total diet study at a Brazilian university restaurant. **Food Additives and Contaminants**, v. 28, n. 1, p. 71-79, 2011.

CANTARUTTI T.F.P.; ARAÚJO, S.L.; ROSSI, S.C.; DALSENTER, P.R. Resíduos de pesticidas em alimentos. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 18, p. 9-16, 2008.

CARVALHO, G.A.; SANTOS, C.D.; ALVES, D.S.; CARVALHO, G.A.; CARDOSO, M.G.; HARO, M.M. Toxic effects of *Ricinus communis* non-protein trypsin inhibitor on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 2928-2936, 2015.

CARVALHO, S.M.; CARVALHO, G.A.; BAPTISTA, A.P.M.; BUENO-FILHO, J.S. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 595-603, 2009.

CESPEDES, C.L.; LINA-GARCIA, L.; KUBO, I.; SALAZAR, J. R.; ARIZA-CASTOLO, A.; AQUEVEQUE, P.; WERNER, E.; SEIGLER, D.S. *Calceolaria integrifolia* s.l. complex, reduces feeding and growth of *Acanthoscelides obtectus* and *Epilachna varivestis*. A new source of bioactive compounds against dry bean pests. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 257-267, 2016.

CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO. **Nova Lei da Biodiversidade**. 2017. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/patrimonio-genetico/conselho-de-gestao-do-patrimonio-genetico>>. Acesso em: 07 de agosto de 2017.

COSTA, A.V., PINHEIRO, P.F., DE QUEIROZ, V.T., RONDELLI, V.M.; MARINS, A.K.; VALBON, W.R.; PRATISSOLI, D. Chemical composition of essential oil from *Eucalyptus citriodora* leaves and insecticidal activity against *Myzus persicae* and *Frankliniella schultzei*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 18, n. 2, p. 374-381, 2015.

DE MELO, B.A.; MOLINA-RUGAMA, A.J.; HADDI, K.; LEITE, D.T.; DE OLIVEIRA, E.E. Repellency and bioactivity of caatinga biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae):

Bruchinae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 417-423, 2015.

DIETRICH, F.; STROHSCHOEN, A.A.G.; SCHULTZ, G.; SEBBEN, A.D.; REMPEL, C. Utilização de inseticidas botânicos na agricultura orgânica de Arroio do Meio/RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 2-4, p. 251-255, 2011.

DUPRAT, R.C., ANHOLETI, M.C., DE SOUSA, B.P., PACHECO, J.P.F., FIGUEIREDO, M. R., KAPLAN, M.A.C., SANTOS, M.G., GONZALEZ, M.S., RATCLIFFE, N.A., MELLO, C.B., PAIVA, S.R., FEDER, D. Laboratory evaluation of *Clusia fluminensis* extracts and their isolated compounds against *Dysdercus peruvianus* and *Oncopeltus fasciatus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 1, p. 59-66, 2017.

FAND, B.B.; GAUTAM, R.D.; KAMRA, A.; SUROSHE, S.S.; MOHAN, S. Bioefficacy of aqueous garlic extract and a symbiotic bacterium, *Photorhabdus luminescens* against *Phenacoccus solenopsis tinsley* (Homoptera: Pseudococcidae). **Biopesticides International**, v. 8, n. 1, p. 38-48, 2012.

FERREIRA, F.T.R.; VENDRAMIM, J.D.; FORIM, M.R. Bioatividade de nanoformulações de nim sobre a traça-do-tomateiro. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1347-1353, 2012.

FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 3<sup>rd</sup> Edition. Cambridge: Cambridge University Press. 1971, 333 p.

FUNARI, C.S.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas

e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1605-1609, 2013.

GE, Y.; LIU, P.; YANG, R.; ZHANG, L.; CHEN, H.; CAMARA, I.; LIU, Y.; SHI, W. Insecticidal constituents and activity of alkaloids from *Cynanchum mongolicum*. **Molecules**, v. 20, n. 9, p. 17483-17492, 2015.

GOMES, M.C.A.R.; PAULA, V.F.; MOREIRA, A.A.; CASTELLANI, M.A.; MACEDO, G.E.L. Toxicity of plant extracts from Bahia, Brazil, to *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) workers. **Sociobiology**, v. 63, n. 2, p. 770-776, 2016.

GRYCOVÁ, L.; DOSTÁ, J.; MAREK, R. Quaternary protoberberine alkaloids. **Phytochemistry**, v. 68, n. 2, p.150-175, 2007.

HUANG, S.H.; XIAN, J.D.; KONG, S.Z.; LI Y.C.; XIE, J.H.; LIN, J.; CHEN, J.N.; WANG, H.F.; SU, Z.R. Insecticidal activity of pogostone against *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 510-516, 2014.

ISMAN, M.B. A renaissance for botanical insecticides? **Pest Management Science**, v. 71, n. 12, p. 1587-1590, 2015.

ISMAN, M.B.; GRIENEISEN, M.L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 3, p. 140-145, 2014.

JACKOWSKI, J.; HUREJ, M.; RÓJ, E.; POPŁOŃSKI, J.; KOŠNY, L.; HUSZCZA, E. Antifeedant activity of xanthohumol and supercritical carbon dioxide extract of spent hops against stored product pests. **Bulletin**



**of Entomological Research**, v. 105, n. 4, p. 456-46, 2015.

JIDE-OJO, C.; OJO, O.O. Evaluation of the biological effects of leaf extracts of *Jatropha curcas* against *Sitophilus zeamais* (coleoptera: Curculionidae). **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 2166-2172, 2011.

LÜ, J., MA, D. Repellent and contact toxicity of *Alpinia officinarum* rhizome extract against *Lasioderma serricorne* adults. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p.1-8, 2015.

MAAZOUN, A.M., HLEL, T.B., HAMDÍ, S.H., BELHADJ, F., JEMÂA, J.M.B., MARZOUKI, M.N. Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of *Urginea maritima* bulbs extract for the control of *Sitophilus oryzae* (L.). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 3, p. 752-760, 2017.

MADKOUR, M.H.; ZAITOUN, A.A.; SINGER, F.A. Repellent and toxicity of crude plant extracts on saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis* L.). **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v.11, n. 2, p. 381-384, 2013.

MAIA, J.B.; CARVALHO, G.A.; MEDINA, P.; GARZÓN, A.; GONTIJO, P.C.; VIÑUELA, E. Lethal and sublethal effects of pesticides on *Chrysoperla carnea* larvae (Neuroptera: Chrysopidae) and the influence of rainfastness in their degradation pattern over time. **Ecotoxicology**, v. 5, n. 25, p. 845-855, 2016.

MANSOUR, S.A.; ABDEL-HAMID, N.A. Residual toxicity of bait formulations containing plant essential oils and commercial insecticides against the desert

locust, *Schestocerca gregaria* (Forskäl). **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 900-909, 2015.

MANSOURI, A.; CREGUT, M.; ABBES, C.; DURAND, M.J.; LANDOULSI, A.; THOUAND, G. The environmental issues of DDT pollution and bioremediation: a multidisciplinary review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 181, n. 1, p. 309-339, 2017.

MITTAL, A.; KANSAL, R.; KALIA, V.; TRIPATHI, M.; GUPTA, V.K.A kidney bean trypsin inhibitor with an insecticidal potential against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 2, p. 525-539, 2014.

MOSCARDINI, V.F.; GONTIJO, P.C.; MICHAUD, J.P.; CARVALHO, G.A. Sublethal effects of insecticide seed treatments on two nearctic lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). **Ecotoxicology**, v. 24, n. 5, p. 1152-1161, 2015.

NAKAI YUAN, C.L.; WANG, X.L. Isolation of active substances and bioactivity of *Aconitum sinomontanum*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 22, p. 2099-2102, 2012.

NAPOLEÃO, T.H.; BELMONTE, B.D.R.; PONTUAL, E.V.; ALBUQUERQUE, L.P.; PAIVA, L. M.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 26-33, 2013.

NEBAPURE, S.M.; SRIVASTAVA, C.; WALIA, S. Insect growth inhibitory potential of glory lily, *Gloriosa*

*superba* Linn. (Colchicaceae) against tobacco leaf eating caterpillar, *Spodoptera litura* [Fabricius] (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomologia Generalis**, v. 35, n. 1, p. 61-74, 2014.

OLIVEIRA, E.R. **Toxicidade do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* e do citral para *Spodoptera frugiperda* e suas atividades colinesterásicas *in vitro***. Dissertação (Mestrado em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG. p. 70. 2016.

PADÍN, S.B.; FUSÉ, C.; URRUTIA, M.I.; DAL BELLO, G.M. Toxicity and repellency of nine medicinal plants against *Tribolium castaneum* in stored wheat. **Bulletin of Insectology**, v. 66, n.1, p. 45-49, 2013.

PAN, L.; REN, L.; CHEN, F.; FENG, Y.; LUO, Y. Antifeedant activity of Ginkgo biloba secondary metabolites against *Hyphantria cunea* larvae: Mechanisms and applications, **PLoS One**, v. 11, n. 5, p. 1-12, 2016.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects - A review. **Plant Protection Science**, v. 52, n. 4, p. 229-241, 2016.

QUIROZ, S.; CESPEDES, C.L.; ALDERETE, J.B.; ALARCON, J. Ceanothane and oleanane-type triterpenes from *Talguenea quinquenervia* have insecticidal activity against *Cydia pomonella*, *Tenebrio molitor* and *Drosophila melanogaster*. **Industrial Crops and Products**, v. 74, n. 15, p. 759-766, 2015.

RAMOS, V.; ALVES, D.; BRAGA, M.; CARVALHO, G.; SANTOS, C. Extraction and isolation of anti-tryptic castor-bean (*Ricinus communis* L.) substances and their effects on *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 128-134, 2013.

RAWI, S. M.; BAKRY, F.A.; AL-HAZMI, M.A. Biochemical and histopathological effect of crude extracts on *Spodoptera littoralis* larvae. **Journal of Evolutionary Biology Research**, v. 3, n. 5, p. 67 -78, 2011.

RIBEIRO, L.M.S.; SIQUEIRA, H.A.A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; FERREIRA H. N.; SILVA, J.E.; TEIXEIRA, Á.A.C. Field resistance of Brazilian *Plutella xylostella* to diamides is not metabolism-mediated. **Crop Protection**, v. 93, p. 82-88, 2017.

RIBEIRO, L.P.; ANSANTE, T.F.; NICULAU, E.S.; PAVARINI, R; SILVA, M.F.G.F; SEFFRIN, R.C.; VENDRAMIM, J.D. *Pimenta pseudocaryophyllus* derivatives: extraction methods and bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 44, n. 6, p. 634-642, 2015.

ROEL, A.R.; DOURADO, D.M.; MATIAS, R.; PORTO, K.R.A.; BEDNASKI, A.V.; COSTA, R.B. DA. The effect of sub-lethal doses of *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil on the midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 3, p. 505-510, 2010.

ROSSI, G.D.; SANTOS, C.D.; CARVALHO, G.A.; ALVES, D.S.; PEREIRA, L.L.S.; CARVALHO, G.A.

Biochemical analysis of a castor bean leaf extract and its insecticidal effects against *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 503-509, 2012.

SANTOS, J.C. **Toxicidade de extratos vegetais e suas frações para *Atta sexdens* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Formicidae) e seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* (Moller) Singer (Agaricales: Agaricaceae)**. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, p. 220, 2013.

SANTOS, M.A.I.; CORRÊA, A.D.; ALVES, A.P.; SIMÃO, A.A.; ALVES, D.S.; OLIVEIRA, R.L.; SACZK, A.A.; CARVALHO, G.A. Cassava leaf methanolic extract as an alternative to control of fall armyworm and leaf cutter ants. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3501-3512, 2013.

SELIN-RANI, S.; SENTHIL-NATHAN, S.; REVATHI, K.; CHANDRASEKARAN, R.; THANIGAIVEL, A.; VASANTHA-SRINIVASAN, P.; PONSANKAR, A.; EDWIN, E.S.; PRADEEPA, V. Toxicity of *Alangium salvifolium* Wang chemical constituents against the tobacco cutworm *Spodoptera litura* Fab. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 126, p. 92-101, 2016.

SILVA, J.E.; ASSIS, C.P.O.; RIBEIRO, L.M.S.; SIQUEIRA, H.A.A. Field-evolved resistance and cross-resistance of brazilian *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) populations to diamide insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 5, p. 2190-2195, 2016.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

ŞİMŞEK, S.; YAMAN, C.; YARLMOĞLU, B.; YILMAZ, A. Toxicity of some essential oils and plant extracts against *Sitophilus oryzae*, *Acanthocelides obtectus* and *Rhizoperla dominica*. **AIP Conference Proceedings**, v. 1833, 020074, 2017.

SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. 2017. **Agrofit**. Disponível em: <<http://agrofit.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 08 de agosto de 2017.

SLANSKY, F.J.; SCRIBER, J.M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon, 1985. v.4, p.165-211.

SOUSA, M.F.; SILVA, L.V.; BRITO, M.D.; FURTADO, D.C.M. Tipos de controle alternativo de pragas e doenças nos cultivos orgânicos no estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, p. 132-138, 2012.

SOUZA, C.M.; BALDIN, E.L.L.; RIBEIRO, L.P., SILVA, I.F.; MORANDO, R.; BICALHO, K.U.; VENDRAMIM, J.D.; FERNANDES, J.B. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 701-709, 2017.

STOLL, A.; SQUEO, F.A. Latin American plant sciences: from early naturalists to modern Science. **Plant Ecology & Diversity**, v. 5, n. 2, p. 147-151, 2012.

SWAMI, H.S.; SINGH, K.S.P.; GENNARO, L.; DUTT, R.D. **Extraction technologies for medicinal and aromatic plants**. International Centre for Science and High Technology. 260 p. 2008.

TIRELLI, A.A.; ALVES, D.S.; CARVALHO, G.A.; SÂMIA, R.R.; BRUM, S.S.; GUERREIRO, M.C. Efeito de frações tânicas sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1417-1424, 2010.

VENTRELLA, E.; ADAMSKI, Z.; CHUDZIŃSKA, E.; MIĄDOWICZ-KOBIELSKA, M.; MARCINIAK, P.; BÜYÜKGÜZEL, E.; BÜYÜKGÜZEL, K.; ERDEM, M.; FALABELLA, P.; SCRANO, L.; BUFO, S.A. *Solanum tuberosum* and *Lycopersicon esculentum* leaf extracts and single metabolites affect development and reproduction of *Drosophila melanogaster*. **PLoS One**, v. 11, n. 5, p. 1-16, 2016.

VIEIRA, D.C.; NOLDIN, J.A.; DESCHAMPS, F.C.; RESGALLA, C. Ecological risk analysis of pesticides used on irrigated rice crops in southern Brazil. **Chemosphere**, v. 162, p. 48-54, 2016.

WALDBAUER, G.P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology**, v. 5, n. 7, p. 229-288, 1968.

WANUMEN, A.C.; CARVALHO, G.A.; MEDINA, P.; VIÑUELA, E.; ADÁN, Á. Residual acute toxicity of some modern insecticides toward two mirid predators of

tomato pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1079-1085, 2016.

WEI, L.; HUA, R.; LI, M.; HUANG, Y.; LI, S.; HE, Y.; SHEN, Z. Chemical composition and biological activity of star anise *Illicium verum* extracts against maize weevil, *Sitophilus zeamais* adults. **Journal of Insect Science**, v. 14, p. 80, 2014.

WINK, M. Importance of plant secondary metabolites for protection against insects and microbial infections. In: MAHENDRA, R.; MARÍA CECILIA, C., Eds., **Advances in Phytomedicine**, vol. 3, Elsevier: Amsterdam. 2006, 251-268.

WINK, M. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective, In: VAN BEEK, T.A.; BRETELER, H. (Eds.). **Phytochemistry and Agriculture**. Clarendon Press: Oxford, UK. 1993, p. 171-213.

XU, G.; YANG, X.; JIANG, B.; LIU, X.; WANG, Q.; ZHANG, X.; LING, Y. Synthesis and bioactivities of novel piperazine-containing 1,5-diphenyl-2-penten-1-one analogues from natural product lead. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 7, p. 1849-1853, 2016.

YADAV, P.A.; SURESH, G.; RAO, M.S.A.; SHANKARAIHAH G.; USHA RANI, P.; BABU, K.S. Limonoids from the leaves of *Soymida febrifuga* and their insect antifeedant activities. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 3, p. 888-892, 2014.

YANG, C.; GUNDALA, S.R.; MUKKAVILLI, R.; VANGALA, S.; REID, M.D.; ANEJA, R. Synergistic



interactions among flavonoids and acetogenins in graviola (*Annona muricata*) leaves confer protection against prostate cancer. **Carcinogenesis**, v. 36, n. 6, p. 656–665, 2015.

YARMOOHAMMADI, M.; TALEBI, S.M.; NOHOJI, M.G. Intraspecific variations in essential oil and glandular trichomes in *Nepeta heliotropifolia*. **Biodiversitas**, v. 18, n. 3, p. 964-970, 2017.

YI, J.H.; PERUMALSAMY, H.; SANKARAPANDIAN, K.; CHOI, B.R.; AHN, Y.J. Fumigant Toxicity of phenylpropanoids identified in *Asarum sieboldii* aerial parts to *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae) and *Coboldia fuscipes* (Diptera: Scatopsidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 1208-1214, 2015.



CAPÍTULO

# 3

## IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

**Denilson Ferreira de Oliveira** <sup>(1)</sup>

**Geraldo Andrade Carvalho** <sup>(2)</sup>

**Dejane Santos Alves** <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras – *Campus* Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: denilson@dqf.ufla.br.

<sup>(2)</sup> Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras – *Campus* Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: gacarval@den.ufla.br.

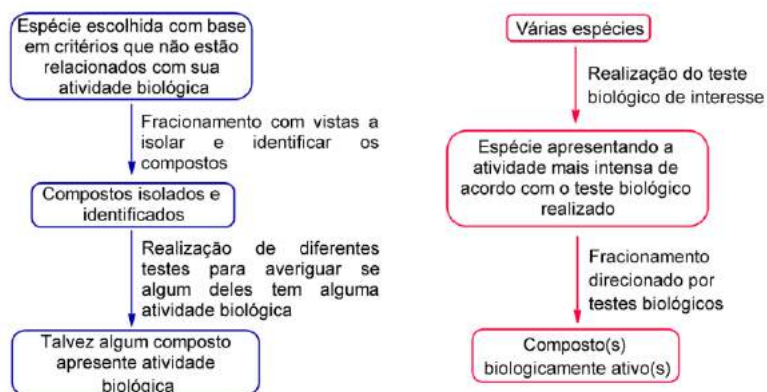
<sup>(3)</sup> Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Santa Helena, 85982-000, Santa Helena, PR, Brasil. E-mail: dejanealves@utfpr.edu.br

### *Introdução*

A identificação de compostos bioativos engloba um número grande de disciplinas, sendo impossível abordar todas as possibilidades em um texto tão singelo como este. Um dos caminhos a ser trilhado, que tem sido utilizado por vários pesquisadores, diz respeito à utilização de materiais de origem natural como fontes de compostos bioativos. Dentre as fontes mais comuns desses compostos se encontram as plantas (Cseke et al., 2006) e os micro-organismos, especialmente os fungos e bactérias (Tringali et al., 2012). Mesmo fazendo uma restrição inicial apenas a estes

organismos como fontes de compostos bioativos, tem-se um número enorme de possibilidades. Logo, uma das primeiras perguntas importantes a serem respondidas é a seguinte: qual será a espécie utilizada no trabalho objetivando identificar compostos bioativos a partir de fontes naturais? Em alguns casos é possível basear a escolha em trabalhos previamente realizados, através dos quais uma determinada espécie pode ter sido selecionada por produzir compostos com as atividades biológicas desejadas. Entretanto, em vários casos isto não é possível, o que pode acarretar a adoção de uma das seguintes abordagens: a) escolher uma espécie com base em critérios que não estejam ligados à atividade biológica dos seus metabólitos, para os purificar e só então realizar testes biológicos diversos para averiguar se algum deles possui alguma atividade biológica; b) Coletar amostras de várias espécies para a realização de um teste biológico que permita selecionar a espécie mais promissora, para que a mesma seja submetida a fracionamento direcionado por testes biológicos até o(s) isolamento(s) do(s) composto(s) ativo(s) (Figura 1). Além disto, é claro, podem-se adotar abordagens mistas, que contemplem parcialmente cada uma daquelas até agora mencionadas.

## A Química na Produção Vegetal



**Figura 1.** Abordagens distintas comumente utilizadas quando não se sabe qual organismo produz compostos bioativos.

Qualquer que seja a abordagem adotada, é importante ter em mente a necessidade de membros na equipe de pesquisa com conhecimento e infraestrutura necessários para lidar com três questões importantes: a) coleta, identificação e manutenção da(s) espécie(s) a ser(em) estudada(s); b) realização de testes biológicos; c) fracionamento e identificação dos compostos orgânicos. Apesar dos itens “a” e “b” serem de grande importância, o presente texto irá focar apenas no item “c”, deixando os outros itens para discussões futuras.

Há várias estratégias que podem ser aplicadas à purificação e identificação de compostos orgânicos a partir de fontes naturais (Sarker et al., 2006; Colegate & Molyneux, 2007). Por exemplo, quando se acredita, por algum motivo, que o composto bioativo produzido por uma espécie vegetal é apolar e apresenta até uns 20 átomos de carbono em sua

estrutura, é possível realizar uma hidrodestilação em aparato de Clevenger modificado (Figura 2).

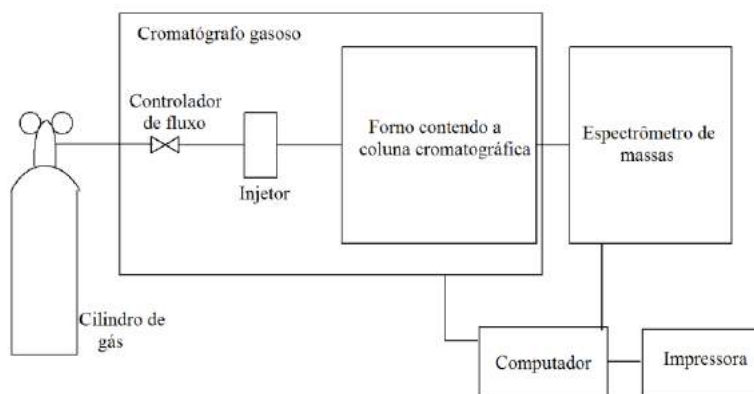


**Figura 2.** Foto ilustrativa de um aparato de Clevenger modificado para a realização de hidrodestilação.

Na hidrodestilação, também conhecida como destilação com arraste de vapor, o material vegetal e água são colocados no balão de vidro com fundo redondo, que é aquecido com uma manta de aquecimento até a ebulição. Os vapores condensam ao entrar em contato com o tubo na parte superior, que é refrigerado com água. A água e o óleo

condensados caem no tubo mais fino, logo abaixo e, como o óleo tem densidade menor do que a água, fica na parte superior, podendo ser facilmente separado da água por decantação. Este é o óleo essencial de plantas, que pode ser composto por várias substâncias apolares, com até aproximadamente 20 átomos de carbono. Para identificar os seus componentes é muito comum a utilização da cromatografia gasosa (*gas chromatography* em inglês) acoplada à espectrometria de massas (*mass spectrometry* em inglês), que geralmente é representada pela sigla CG-EM (GC-MS em inglês). Em linhas gerais, um aparelho desta natureza é composto de um cilindro de gás carreador, que geralmente se trata do hélio (He). Através de tubulações, este é conectado ao cromatógrafo gasoso, no qual se encontra o injetor, através do qual a amostra a ser analisada é inserida no sistema. O gás carreador empurra a amostra para a coluna cromatográfica, que fica inserida em um forno cuja temperatura pode ser mantida constante ou, como é mais comum nestas análises, varia de acordo com uma taxa pré-estabelecida. As substâncias separadas na coluna cromatográfica são, então, inseridas no espectrômetro de massas, que obtém espectros de massas a cada fração de segundos (McMaster, 2008). Todo o sistema pode ser controlado por um computador, a partir do qual os dados das análises podem ser obtidos em forma impressa ou digital (Figura 3).

## A Química na Produção Vegetal



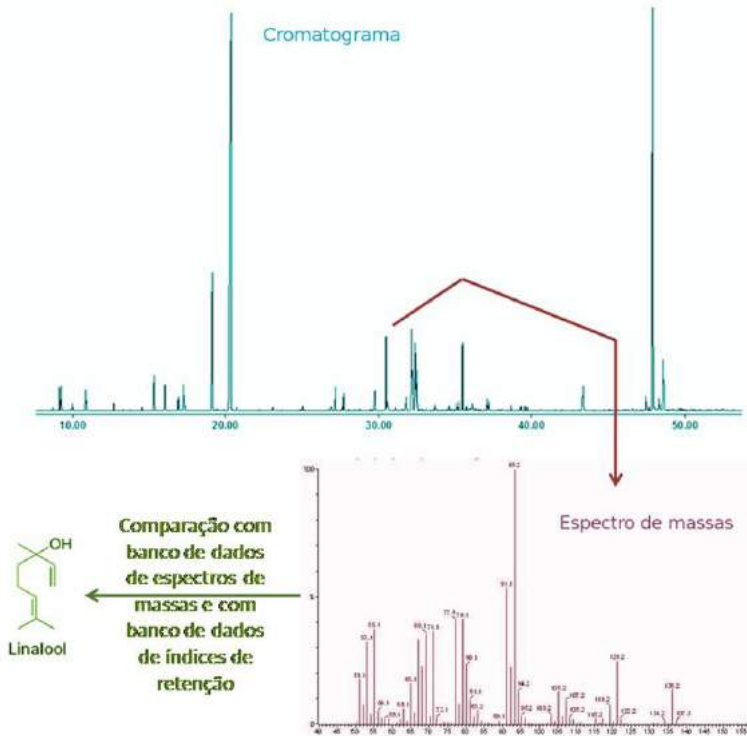
**Figura 3.** Esquema básico de um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas.

Na Figura 4 se observa, em azul, um gráfico chamado de cromatograma, obtido por CG-EM de um óleo essencial. A abscissa corresponde ao tempo de análise em minutos, que é chamado de tempo de retenção. A ordenada, que não aparece, corresponde à intensidade do sinal. Teoricamente, cada pico no cromatograma corresponde a uma substância presente no óleo. Por exemplo, para o pico marcado com o traço marrom, em aproximadamente 31 min, tem-se o espectro de massas em liláz. Tal espectro tem valores de massa/carga ( $m/z$ ) na abscissa e intensidade do sinal na ordenada. Quando comparado ao banco de dados de espectros de massas, observa-se elevada semelhança com aquele do linalool, sugerindo que o pico marcado corresponda a esta substância. Para corroborar este resultado, pode-se calcular o índice de retenção com base nos tempos de retenção de uma combinação de hidrocarbonetos lineares, que é utilizada como padrão, para a



## A Química na Produção Vegetal

comparação de tal índice com valores tabelados para o linalool.



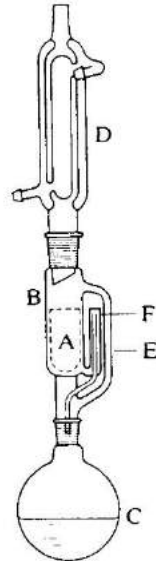
**Figura 4.** Exemplo de utilização da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para a identificação do linalool em um óleo essencial.

Para exemplificar o uso desta metodologia, é possível citar o trabalho desenvolvido por Jardim et al. (2017), que empregaram o óleo essencial da espécie vegetal *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl. no controle do nematoide *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood em plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merr.]. Com o uso da CG-EM foi possível identificar os componentes do óleo essencial, que foram separadamente utilizados em testes com o nematoide

para a identificação daquele responsável pela atividade nematicida observada.

Para os compostos orgânicos que não podem ser caracterizados como componentes de óleos essenciais, geralmente a abordagem inicial consiste em utilizar solventes para processos de extração (Sarker et al., 2006; Colegate & Molyneux, 2007). Também é possível utilizar fluidos supercríticos para esta etapa (King & Bott, 1993), mas de um modo geral esta não é possibilidade comumente empregada nos laboratórios de pesquisa em geral. Os solventes a serem utilizados no processo de extração poderão variar de acordo com as características da amostra e com as estruturas dos compostos de interesse. Por exemplo, se houver alguma informação prévia de que os compostos de interesse possam ser alcaloides, pode-se proceder a uma extração do material vegetal previamente selecionado, pelo emprego de soluções alcoólicas contendo água e um ácido como, por exemplo, o ácido clorídrico (HCl). A reação do alcaloide com o ácido resulta na formação de um sal de amônio, com elevada solubilidade em soluções aquosas. Em seguida, o alcaloide pode ser precipitado da solução ácida pela adição de uma base ao meio, como é o caso de solução de hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH). Se porventura for de conhecimento que o composto de interesse é solúvel em hexano aquecido, é possível empregar um extrator de Soxhlet (Figura 5). A amostra é colocada em "A", enquanto o solvente é colocado em "C", que é aquecido, causando a evaporação do solvente. Este condensa em "D" e cai

sobre "A", extraíndo as substâncias ainda quente. Em seguida, desce para o balão "C" através de "E" e "F" (Harborne, 1998).



**Figura 5.** Figura ilustrativa de um extrator de Soxhlet.

Quando não se tem informações sobre as estruturas dos compostos bioativos, um procedimento muito utilizado consiste em empregar metanol (MeOH) ou etanol (EtOH) contendo 30 % de água (EtOH 70%) na primeira extração, que geralmente é feita na temperatura ambiente. Quando se emprega EtOH 70 % é comum concentrar as soluções alcoólicas resultantes em evaporador rotatório (Figura 6), até a obtenção de uma suspensão aquosa, que pode ser submetida à partição líquido-líquido com solventes imiscíveis com a água. Quando se emprega MeOH é comum concentrar as soluções alcoólicas até a secura em evaporador rotatório (Figura 6), para que o

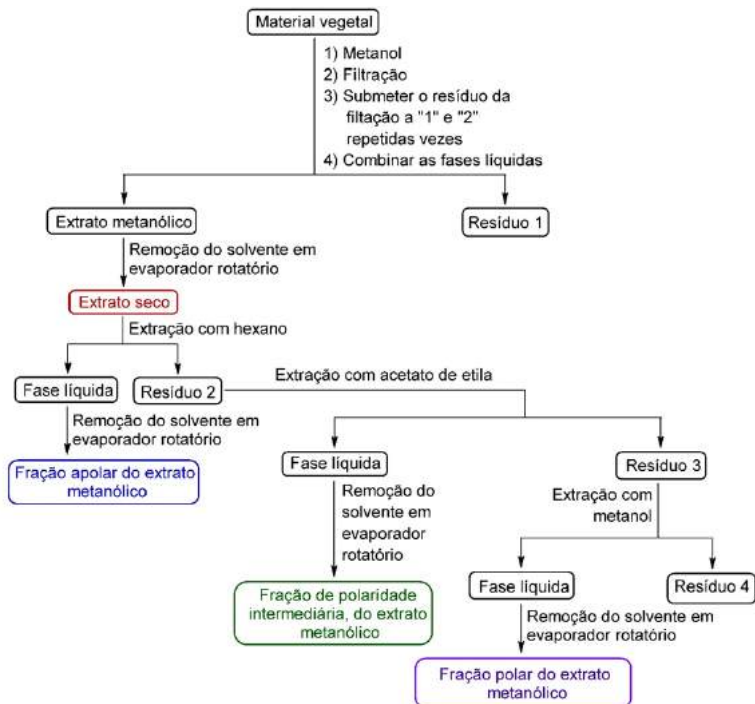
## A Química na Produção Vegetal

resíduo obtido seja submetido a extrações subsequentes com solventes de diferentes polaridades (Figura 7) (Harborne, 1998).



**Figura 6.** Figura ilustrativa de um evaporador rotatório.

## A Química na Produção Vegetal

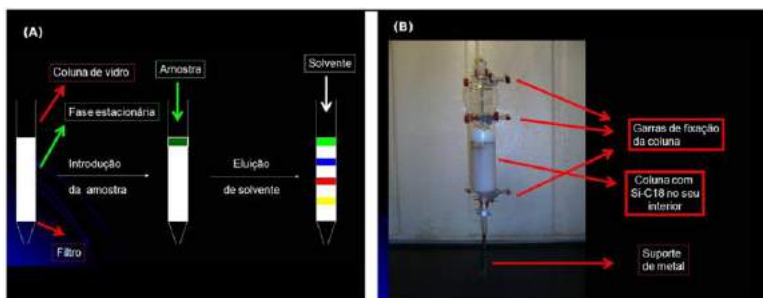


**Figura 7.** Esquema básico, para ilustrar a extração de material vegetal com metanol e subsequente fracionamento do extrato com solventes de polaridades distintas.

No caso de amostras líquidas, como é o caso de meios de cultura líquidos, utilizados no cultivo de micro-organismos, pode-se por exemplo, empregar partição líquido-líquido. Para isto, podem ser utilizados solventes imiscíveis com água, como é o caso do acetato de etila (AcOEt), diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e dietil éter ( $\text{Et}_2\text{O}$ ). Outra possibilidade consiste em remover a água do meio por liofilização, para se conseguir um resíduo que pode ser submetido a extrações sucessivas com solventes de diferentes

polaridades (Sarker et al., 2006; Colegate & Molyneux, 2007).

Qualquer que seja o procedimento inicial para processar a amostra de origem natural, dificilmente ele resultará em compostos bioativos puros. Logo, geralmente as frações obtidas são submetidas a outras técnicas de fracionamento mais eficientes, como é o caso das técnicas cromatográficas, que estão esquematicamente representadas na Figura 8A. Em uma coluna de vidro, contendo um filtro em uma das suas extremidades, é colocado um sólido para ser utilizado como fase estacionária. Dentre os mais utilizados para esta finalidade se encontram sílica gel, alumina, celulose, sílica revestida com cadeias de 18 átomos de carbono (sílica-C18) etc. Aplica-se a amostra a ser fracionada no topo da coluna e, logo em seguida, aplica-se no topo também, solvente ou combinações de solventes, que correspondem às fases móveis. Todo processo cromatográfico tem sempre uma fase estacionária e uma fase móvel. Ao passar através da coluna, a fase móvel carrega os componentes da amostra com diferentes velocidades lineares, para a outra extremidade da coluna. Logo, para que se consiga separar os componentes da amostra, basta coletar frações da fase móvel na outra extremidade da coluna, utilizando-se, por exemplo, tubos de ensaio (Dhanarasu, 2012). Este é um sistema que pode ser facilmente montado em laboratório com uma coluna de vidro (Figura 8B).



**Figura 8.** (A) Esquema simplificado dos métodos cromatográficos; (B) Figura ilustrativa de um sistema simplificado para cromatografia em coluna de vidro.

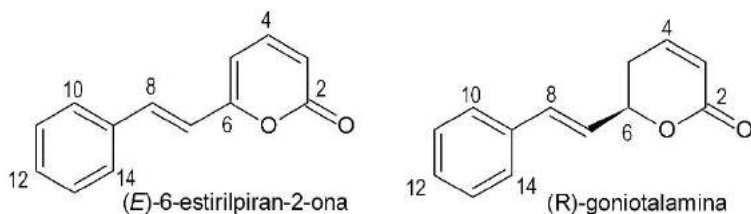
Para acompanhar o processo, verificando, por exemplo, quais frações são cromatograficamente similares ou/e correspondem a compostos puros, pode-se fazer uso da cromatografia em camada fina (CCF; TLC em inglês), também conhecida como cromatografia em camada delgada (CCD) (Hahn-Deinstrop, 2007). Neste caso, a fase estacionária é depositada na forma de um filme sobre uma superfície planar, geralmente de vidro, alumínio ou plástico. Uma pequena alíquota da amostra é aplicada em um ponto específico, próximo a uma das extremidades da placa de TLC que, a seguir, é colocada em reservatório de forma a encostar tal extremidade no fundo do reservatório, que deve conter o solvente a ser empregado como fase móvel. A placa é mantida na vertical, de forma que o solvente sobe pela fase estacionária por capilaridade, arrastando os componentes da amostra sob análise com velocidades lineares diferentes. Em seguida, usa-se um revelador para observar as manchas na placa, que são correspondentes a cada um dos compostos presentes na amostra (Figura 9).



**Figura 9.** Figura ilustrativa de uma placa de cromatografia em camada fina, contendo seis manchas, que teoricamente correspondem a seis compostos diferentes. A revelação das manchas foi feita com solução de *p*-anisaldeído em etanol contendo ácido sulfúrico.

Para exemplificar a utilização desta metodologia é possível citar o trabalho realizado por Campos et al. (2016). Neste trabalho, inicialmente foi preparado o extrato metanólico da espécie vegetal *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae Juss.). Após fracionamento inicial do extrato metanólico por extrações com solventes de diferentes polaridades, a fração bioativa foi submetida a fracionamento por cromatografia em coluna do tipo *flash* (Still et al., 1978), monitorada por análises por CCD. Isto permitiu o isolamento de dois compostos bioativos (Figura 10)



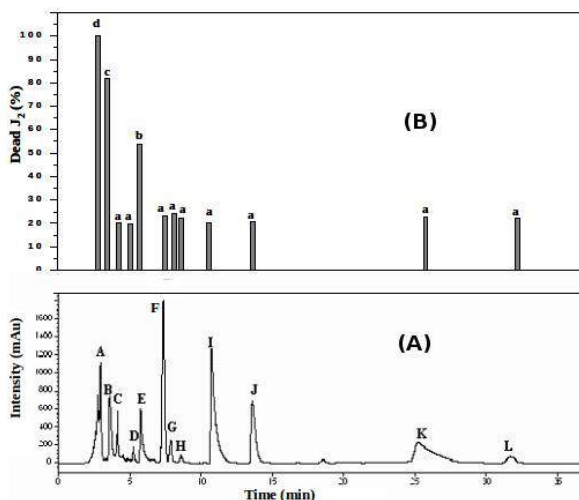


**Figura 10.** Compostos bioativos isolados da espécie vegetal *Cryptocarya aschersoniana*. Fonte: Campos et al., 2016.

Apesar de fornecer resultados satisfatórios em vários processos de purificação de compostos orgânicos, o fracionamento em colunas de vidro preenchidas manualmente com a fase estacionária apresenta limitações. Em tais casos, pode ser necessário recorrer a técnicas cromatográficas mais eficientes. Uma possibilidade diz respeito ao uso da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE; HPLC em inglês) (Wellings, 2006). Neste caso, utiliza-se uma coluna de metal, preenchida com uma fase estacionária com tamanhos de partículas bem menores e mais uniformes. Ademais, o próprio sistema de CLAE já tem um detector, o que permite perceber com facilidade os compostos eluindo para fora da coluna cromatográfica durante o processo. Embora tal sistema seja muito eficiente, apresenta uma grande desvantagem em relação à coluna de vidro: elevado custo de aquisição, uso e manutenção.

Um exemplo do uso desta técnica pode ser observado no trabalho realizado para purificar e identificar os metabólitos bioativos produzidos pela bactéria *Paenibacillus macerans*. A fração obtida através de fracionamento por cromatografia em

coluna, foi analisada e fracionada por CLAE, o que permitiu obter 12 frações diferentes entre si (Figura 11A). De acordo com o teste biológico realizado, apenas as frações A, B e E (Figura 11B) eram bioativas, sendo todas as outras estatisticamente iguais ao controle empregado no teste (Oliveira et al., 2009.)



**Figura 11.** (A) Cromatograma obtido em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE; HPLC em inglês), utilizando uma coluna de sílica-C18, de uma fração bioativa de meio de cultura utilizado no cultivo da bactéria *Paenibacillus macerans*. (B) Atividades biológicas correspondentes a cada uma das frações separadas por CLAE; colunas com a mesma letra minúscula em "B" não são significativamente diferentes entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Qualquer que seja o método empregado para purificar o composto bioativo, faz-se necessário identificá-lo. Para tanto, os métodos espectrométricos são de grande valor (Silverstein & Webster, 2005). Dentre o conjunto de tais métodos, o mais limitado de todos é a espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-

VIS), que tem a ver com as transições eletrônicas das moléculas (Dibbern et al., 2002). Em geral, fornece poucas informações sobre a estrutura do composto sob análise, mas ainda é uma técnica utilizada principalmente pelos grupos de pesquisas que dispõem de aparelhos de CLAE (ou HPLC em inglês), pois a maioria deles possui detectores de UV-VIS. Logo, é bastante simples obter o espectro de UV-VIS durante a análise do composto por CLAE.

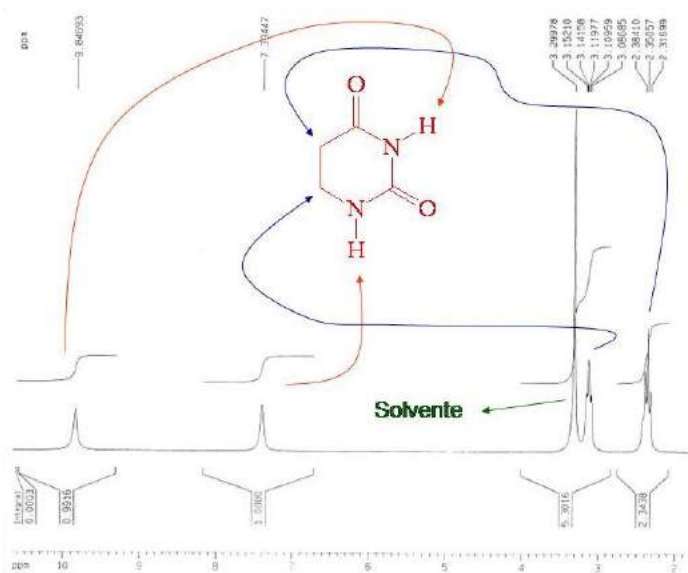
Outra técnica espectrométrica bastante usual é a espectroscopia de infravermelho (IV; IR em inglês), que tem a ver com os modos vibracionais das moléculas (Stuart, 2004). Neste caso, geralmente é necessário 1 mg de amostra para a obtenção de espectro de forma relativamente simples e não destrutiva da amostra. Logo, o composto pode ser facilmente recuperado após a análise. Ademais, os custos de aquisição e de manutenção dos espectrômetros de IV são bem menores do que os observados para os espectrômetros de massas e de ressonância magnética nuclear. Conseqüentemente, é muito comum a obtenção de espectros de infravermelho com vistas à identificação de compostos bioativos. Entretanto, apesar desta técnica fornecer mais informações do que a espectroscopia de UV-VIS, apresenta muitas limitações, sendo praticamente impossível identificar o composto isolado sem a utilização de outras técnicas espectrométricas.

É improvável pensar na identificação de compostos bioativos a partir de fontes naturais sem

considerar a utilização da espectrometria de massas (EM). Além de poder fornecer informações importantes sobre a estrutura do composto sob análise, esta técnica permite a obtenção da sua massa molecular, que é uma informação importantíssima (Watson & Sparkman, 2007). Consome quantidades ínfimas do composto sob análise, que pode ser introduzido no espectrômetro de massas de forma direta ou através de cromatógrafo gasoso, cromatógrafo líquido de alta eficiência, cromatógrafo de fluido supercrítico ou aparelho de eletroforese capilar. Estas possibilidades ampliaram muito o leque de possibilidades deste método espectrométrico, que hoje é utilizado em praticamente todos os processos de identificação de substâncias bioativas a partir de fontes naturais.

Há também a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), que na grande maioria dos casos foca nos átomos de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e de carbono treze ( $^{13}\text{C}$ ). É uma técnica extremamente poderosa, que permite a obtenção de um número grande informações sobre a estrutura do composto sob análise (Richards & Hollerton, 2011). É simplesmente impensável para um grupo de pesquisa na área de identificação de substâncias bioativas de fontes naturais, o trabalho sem acesso a um aparelho de RMN. Apesar deste método ser indispensável nesta área de atuação, apresenta um grande problema: elevado custo de aquisição, uso e manutenção. Um simples exemplo de identificação de substância bioativa com o uso desta técnica pode ser observado

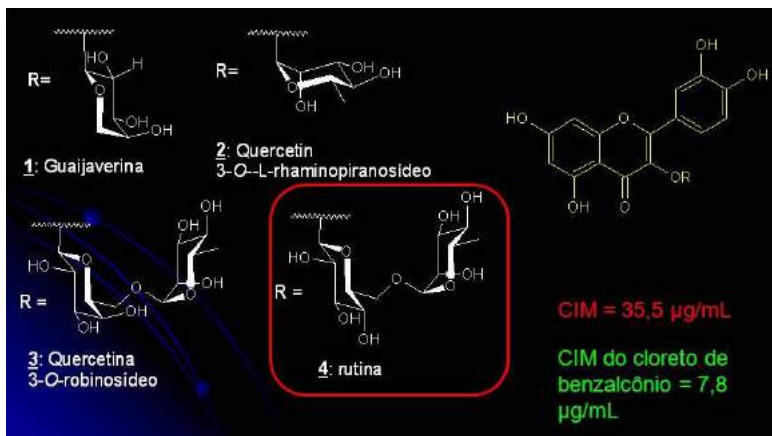
no trabalho de Oliveira et al. (2014), segundo os quais a di-hidrouracila é umas substâncias bioativas produtizas por bactéricas do gênero *Bacillus*. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  desta substância (Figura 12) é bastante simples, apresentando apenas quatro sinais quando obtido a partir de solução em dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-*d*6).



**Figura 12.** Espectro de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) da di-hidrouracila, obtido em dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-*d*6), em espectrômetro de RMN com campo de 200 MHz.

Para exemplificar a maior parte dos aspectos até aqui citados sobre a purificação e identificação de compostos bioativos, é possível mencionar um trabalho cujo foco foi o fungo *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, que é produtor da ocratoxina A, um composto com propriedades imunossupressoras, carcinogênicas, genotóxicas, teratogênicas e

nefróticas. Com vistas a contribuir para o desenvolvimento de produtos para o controle deste fungo e consequente redução da contaminação de alimentos com a ocratoxina A, extratos metanólicos de 43 espécies vegetais foram preparados e submetidos a testes *in vitro* com *A. ochraceus*. O mais ativo, proveniente da planta *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss, foi submetido a fracionamento através de lavagens com solventes e de métodos cromatográficos, para isolamento dos compostos bioativos (Santos Júnior et al., 2014). Foi de vital importância o uso de métodos espectrométricos para a identificação dos compostos isolados, que se tratavam de flavonoides glicosilados (Figura 13). O mais ativo deles, chamado de rutina, apresentou concentração inibitória mínima (CIM; ou MIC em inglês) próxima da observada para o antifúngico comercial cloreto de benzalcônio.



**Figura 13.** Estruturas das substâncias com atividade antifúngica que foram isoladas da espécie vegetal *Heteropteris byrsonimifolia*.

É importante salientar que o processo de purificação e identificação de compostos bioativos faz parte de um todo, cujo objetivo principal no caso em questão é contribuir para o desenvolvimento de novos produtos para o controle de pragas e doenças de interesse agrônomo. Logo, em vários casos não basta purificar e identificar. Pode ser necessário, por exemplo, modificar a estrutura do composto bioativo identificado, de forma que sua eficiência no controle da praga ou doença seja elevada. O exemplo clássico nesta área é o dos inseticidas classificados como piretroides, que se tratam de análogos sintéticos das piretrinas, que são compostos de origem vegetal com atividade inseticida (Henrich, 1994.). Para se alcançar sucesso em modificações estruturais de compostos bioativos, várias técnicas podem ser úteis. Por exemplo, pode ser de grande utilidade saber a enzima afetada pelo composto bioativo no seu alvo biológico. Para tanto, existe a possibilidade de emprego de técnicas computacionais como aquelas que foram utilizadas para a identificação do alvo enzimático dos compostos bioativos isolados da espécie vegetal *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Campos et al., 2014). Sabendo-se da estrutura tridimensional da enzima alvo e da forma como o composto bioativo interage com ela, é possível propor de forma mais racional, alterações na estrutura do composto de forma que a interação com a enzima seja maximizada e, conseqüentemente, a atividade biológica desejada seja elevada.

Finalizando, como dito inicialmente, este texto está longe de ter uma abordagem exaustiva dos aspectos envolvidos na purificação e identificação de compostos bioativos. Foi apenas uma singela introdução ao assunto, durante a qual se procurou citar parte das técnicas/métodos mais empregados, para nortear aquele que pretende aprofundar-se nesta área, que é muito promissora para o desenvolvimento de novos produtos para o controle de pragas e doenças de plantas.

### *Referências*

CAMPOS, V.A.C.; MACHADO, A.R.T.; SILVA, W.J.R.; LOPES, K.C.; TERRA, W.C.; CAMPOS, V.P.; OLIVEIRA, D.F. Estiril-lactonas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. (Lauraceae Juss.) com atividade contra *Meloidogyne* spp. e interação *in silico* com provável fumarase de *Meloidogyne hapla*. **Química Nova**, v. 39, n. 32, p. 130-136, 2016.

COLEGATE, S.M.; MOLYNEUX, R.J. **Bioactive natural products: Detection, isolation, and structural determination**. 2<sup>nd</sup> Edition. Boca Raton: CRC Press. 2007, 624 p.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods**. 3<sup>rd</sup> Edition. London: Chapman & Hall. 1998, 295 p.

HENRICH, C.A. Pyrethroids. In: GODFREY, C.R.A. (Ed). **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker. 1994, p. 63-145.

JARDIM, I.N.; OLIVEIRA, D.F.; SILVA, G.H.; CAMPOS, V.P.; SOUZA, P.E. (*E*)-cinnamaldehyde from



the essential oil of *Cinnamomum cassia* controls *Meloidogyne incognita* in soybean plants. **Journal of Pest Science**. DOI 10.1007/s10340-017-0850-3, 2017.

KING, M.B.; BOTT, T.R. **Extraction of natural products using near-critical solvents**. Amsterdam: Springer Netherlands, 1993. 325 p.

McMASTER, M.C. **GC/MS: A practical users guide**. 2<sup>nd</sup> edition. Hoboken: Wiley, 2008. 129 p.

OLIVEIRA, D.F.; CARVALHO, H.W.P; NUNES, A.S.; SILVA, G.H.; CAMPOS, V.P.; JÚNIOR, H.M.S.; CAVALHEIRO, A.J. The activity of amino acids produced by *Paenibacillus macerans* and from commercial sources against the root-knot nematode *Meloidogyne exigua*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 124, p. 57-63, 2009.

OLIVEIRA, D.F.; SANTOS JÚNIOR, H.M.; NUNES, A.S.; CAMPOS, V.P.; PINHO, R.S.C.; GAJO, G.C. Purification and identification of metabolites produced by *Bacillus cereus* and *B. subtilis* active against *Meloidogyne exigua*, and their in silico interaction with a putative phosphoribosyltransferase from *M. incognita*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 525-538, 2014.

SARKER, S.D.; LATIF, Z.; GRAY, A.I. **Natural products isolation**. 2<sup>nd</sup> Edition. Totowa: Humana Press Inc., 2006. 507 p.

TRINGALI, C. **Bioactive compounds from natural source**. Boca raton: CRC Press. 2012, 579 p.

WATSON, J.T.; SPARKMAN, O.D. **Introduction to mass spectrometry**. 4<sup>th</sup> Edition. Hoboken: Wiley. 2007, 862 p.

CAMPOS, V.A.C.; PERINA, F.J.; ALVES, E.; SARTORELLI, J.; MOURA, A.M.; OLIVEIRA, D.F. *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan produces steroidal substances that are active against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler and that may bind to oxysterol-binding proteins. **Pest Management Science**, v. 70, n. 12, p. 1815–1822, 2014.

CSEKE, L.J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B.; WARBER, S.L.; DUKE, J.A.; BRIELMANN, H.L. **Natural products from plants**. 2<sup>rd</sup> Edition. Boca Raton: CRC Press. 2006, 632 p.

DHANARASU, S. **Chromatography and its applications**. Rijeka: Intech. 2012, 210 p.

DIBBERN, H.W.; MÜLLER, R.M.; WIRBITZKI, E. **UV and IR Spectra: Pharmaceutical substances (UV and IR) and pharmaceutical and cosmetic excipients (IR)**. Berlin: Editio Cantor Verlag, 2002. CR-ROM.

HAHN-DEINSTROP, E. **Applied thin-layer chromatography: Best practice and avoidance of mistakes**. 2<sup>rd</sup> Edition. Hoboken: Wiley, 2007, 330 p.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. 3<sup>rd</sup> Edition. London: Chapman & Hall, 1998. 295 p.

RICHARDS, S.A.; HOLLERTON, J.C. **Essential practical NMR for organic chemistry**. Hoboken: Wiley. 2011, 216 p.

SANTOS JÚNIOR, H.M.; CAMPOS, V.A.C.; ALVES, D.S.; CAVALHEIRO, A.J.; SOUZA, L.P.; BOTELHO, D.M.S.; CHALFOUN, S.M.; OLIVEIRA, D.F. Antifungal activity of flavonoids from *Heteropterys byrsonimifolia* and a commercial source against *Aspergillus ochraceus*: In

silico interactions of these compounds with a protein kinase. **Crop Protection**, v. 62, p. 107-114, 2014.

SARKER, S.D.; LATIF, Z.; GRAY, A.I. **Natural Products Isolation**. 2<sup>rd</sup> Edition. Totowa: Humana Press Inc. 2006, 529 p.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Spectrometric identification of organic compounds**. Hoboken: Wiley. 2005, 550 p.

STILL, W.C.; KAHN, M.; MITRA, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. **Jornal of Organic Chemistry**, v. 43, p. 2923-2925, 1978.

STUART, B. **Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications**. Hoboken: Wiley. 2004, 244 p.

WELLINGS, D.A. **A practical handbook of preparative HPLC**. Amsterdam: Elsevier. 2006, 176 p.



# 4

## **NANOTECNOLOGIA EM EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS: UMA VISÃO SOBRE SUA AÇÃO NOS INSETOS**

**Jéssica Emiliane Rodrigues Gorri** <sup>(1,2)</sup>

**Lorena Ribeiro** <sup>(2)</sup>

**Diarly Sebastião Dos Reis** <sup>(2)</sup>

**Keise Duarte Bacelar de Moraes** <sup>(1,2)</sup>

**Nayara Cecília Rodrigues Costa** <sup>(2)</sup>

**Ézio Marques da Silva** <sup>(1,2)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: gorrijer@gmail.com. <sup>(2)</sup> Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil.

A aplicação de agrotóxicos é uma prática essencial para maximizar a produtividade agrícola, pois favorece o controle de doenças e pragas que podem diminuir a produtividade das culturas e comprometer a qualidade da produção. Na cultura do arroz, por exemplo, as perdas devido ao ataque de pragas chegam a 25%; em oleaginosas esse valor sobe para 35% e perdas de 50% são relatadas na cultura do algodão (Dhaliwal et al., 2010).

Apesar de sua contribuição para a agricultura, a utilização de moléculas sintéticas para o controle de pragas tem-se apresentado excessiva e causado efeitos adversos em seres humanos e ao meio ambiente e selecionados organismos pragas resistentes (Abhilash & Singh, 2009; Kohler & Triebkorn, 2013).

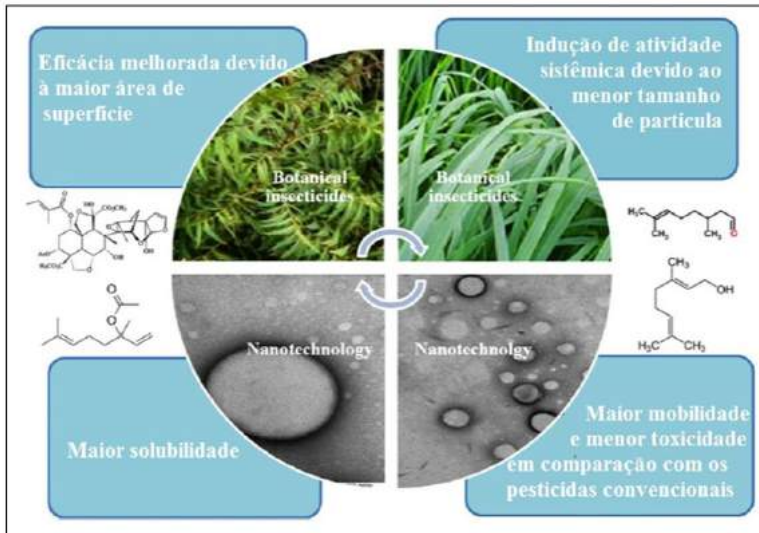
Uma produção sustentável de alimentos para uma crescente população é um dos principais desafios enfrentados pelo setor agrícola. Portanto, é necessário buscar novas formas de proteção para as plantas contra o ataque de pragas. Entre as alternativas está o uso de inseticidas botânicos, considerados ecologicamente mais seguros e com menor impacto para a saúde humana (Pavela, 2007; Dayan et al., 2009).

Extratos e óleos essenciais de plantas podem ter ação inseticida devido à presença em sua constituição de metabólitos secundários, como alcaloides, flavonoides, saponinas, terpenoides e fitohormônios, os quais são produzidos para defesa contra a herbivoria (Isman, 2006). A baixa estabilidade físico-química, alta volatilidade e sensibilidade térmica, além da falta de estudos sobre sua ação em inimigos naturais limitam a utilização de extratos botânicos e óleos essenciais na agricultura para controle de pragas (Cloyd & Chiasson, 2007; Asbahani et al., 2015).

Uma forma de contornar essas limitações é por meio da utilização da nanotecnologia, cuja abordagem científica envolve o uso de materiais em

nanoescala para manipular as propriedades de uma substância em níveis moleculares (Prasad et al., 2014). Há muitas aplicações desta tecnologia na agricultura, a saber: desenvolvimento de sensores para detecção de contaminantes e patógenos; desenvolvimento de sistemas de transferência de genes baseados em nanopartículas; nanocápsulas e nanotubos; construção de sistemas de sensoriamento e controle de qualidade; catalisadores de agrotóxicos; além do desenvolvimento de sistemas nanoparticulados e lipossomais para a liberação sustentada de insumos agrícolas (fertilizantes, herbicidas, inseticidas, fungicidas). A nanotecnologia está sendo utilizada para melhorar a estabilidade e eficácia dos inseticidas botânicos, na qual é capaz de desenvolver um sistema de liberação controlada do composto ativo, otimizando sua ação e minimizando sua degradação rápida e os efeitos negativos sobre inimigos naturais (Figura 1). Assim, esta técnica permite novas formulações de extratos e óleos essenciais com potencial para auxiliar e melhorar o cenário agrícola atual no que se refere aos inseticidas sintéticos por ser uma alternativa que permite maior controle e estabilidade no ambiente (Isman, 2006; Gogos et al., 2012; Rai & Ingle, 2012; Scott & Chen, 2012).





**Figura 1.** Benefícios da associação entre inseticidas botânicos e nanotecnologia. Adaptado de Oliveira et al. (2014).

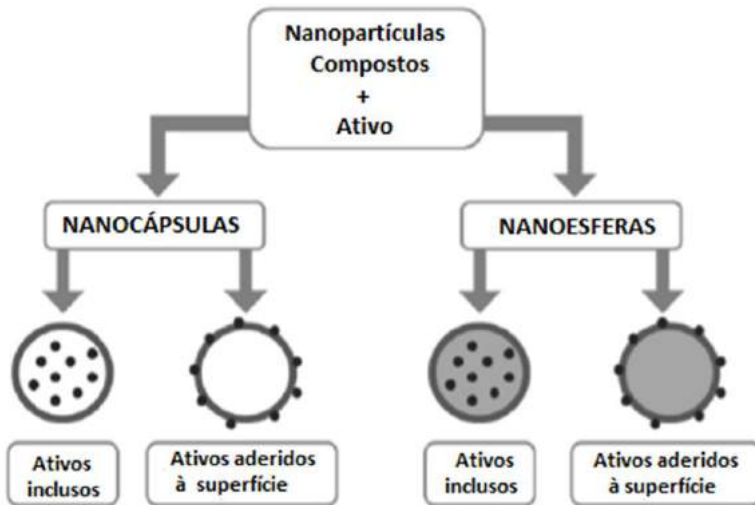
## *Nanopartículas*

As nanopartículas são desenvolvidas pela nanotecnologia por meio da manipulação de partículas subatômicas, no qual um “nano” é a unidade de medida que corresponde à milionésima parte de um milímetro (Grupo ETC, 2004). Elas são estruturas de natureza polimérica ou lipídica (Sahoo et al., 2007; Rao & Geckeler, 2011), porém, devido às limitações apresentadas pelas nanopartículas lipídicas na utilização com inseticidas botânicos, as nanopartículas poliméricas são preferidas para essa finalidade.

Nanopartículas poliméricas podem ser divididas em sistemas coloidais compostos por nanocápsulas ou nanoesferas, as quais são diferenciadas pela



presença ou ausência de óleo na sua composição (Figura 2). As nanocápsulas são estruturas com um núcleo de óleo, que pode ser ou não o composto bioativo (extrato ou óleo essencial) do inseticida botânico, circundado por um polímero. Dessa forma, o composto bioativo pode estar distribuído na nanocápsula ou adsorvido na superfície da parede polimérica. Por outro lado, as nanoesferas possuem o composto bioativo retido na matriz do polímero (Yadav & Yadav, 2010; Rao & Geckeler, 2011).



**Figura 2.** Estrutura das nanopartículas poliméricas. Adaptado de Ferreira (2013).

Para o preparo das nanopartículas poliméricas, de maneira geral, é necessário considerar uma proporção de composto bioativo/polímero para obter eficácia na encapsulação. Essa proporção é dependente da composição química, perfil de degradação (térmica ou temporal) e massa molar dos

polímeros (Geckeler, 2011; Peres, 2012). No preparo de nanopartículas poliméricas há dois métodos que se destaca, um requer uma reação de polimerização, chamado de polimerização de monômeros, e outro com formação direta utilizando-se polímeros pré-formados (Schaffazick et al., 2003). Entre estes, destaca-se a técnica de polímeros pré-formados, por ser um método simples com a precipitação de polímeros. Neste processo, as partículas formam-se de maneira espontânea e instantânea, é mais fácil de controlar e possui maior rendimento (Wang et al., 2010).

Entre os polímeros biodegradáveis que podem ser utilizados para encapsular com nanocápsulas ou nanoesferas, extratos e óleos essenciais de plantas, estão os polihidroxialcanoatos (PHA), como exemplo o poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB), poli- $\epsilon$ -caprolactona (PCL), polietilenoglicol (PEG) e quitosana, ambos degradados por microrganismos. Outro polímero é o polimetilmetacrilato (PMMA), que sob ação do calor degrada-se a metacrilato e resíduos carbonizados (Arisawa & Brill, 1997; Chandra & Rustgi, 1998; Calil, 2000; Oliveira et al., 2014). Todos estes polímeros são sintéticos, exceto a quitosana, que tem origem natural (Yadav & Yadav, 2010).

### *Sistemas nanoestruturados de compostos ativos extraídos de plantas e contendo óleos essenciais*

A nanoencapsulação é um processo de microempacotamento de partículas dispersas em uma

matriz homogênea ou heterogênea, resultando em nanocápsulas com propriedades úteis. Muitas matrizes podem ser usadas para produzir sistemas nanoestruturados, incluindo os polímeros biodegradáveis já citados (Gogos et al., 2012; Perlatti et al., 2013). A partir dessa tecnologia vários produtos nanoestruturados foram desenvolvidos para uso com agentes ativos providenciados de extratos ou isolados de plantas (Tabela 1) e óleos essenciais (Tabela 2).

### *Extrato de Azadirachta indica*

A azadiractina é um dos compostos ativos mais citados na literatura. Trata-se de um biocomposto extraído de *A. indica*, popularmente conhecida como nim. Os extratos das folhas ou o óleo essencial das sementes são amplamente utilizados no controle de pragas; porém, devido à sua sensibilidade a luz e temperatura, bem como fácil degradação por microrganismos, a azadiractina perde sua atividade em um curto período de tempo (Khater, 2011). Dessa maneira, a nanotecnologia pode ser o caminho para potencializar os efeitos desse extrato botânico (Figura 3).

Forim et al. (2013) avaliaram nanopartículas de PLC do extrato de folhas de nim contra a traça-das-brássicas *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Os autores alcançaram eficiência de 98% no encapsulamento. A microscopia eletrônica de varredura confirmou a morfologia esférica das partículas (Figura 4) e mostrou que a liberação do

## A Química na Produção Vegetal

agente ativo foi devido ao relaxamento das cadeias poliméricas ou à degradação do polímero. As nanopartículas melhoraram a estabilidade do extrato na presença de radiação ultravioleta e também aumentaram a sua dispersão em água. Os bioensaios confirmaram que as nanopartículas contendo azadiractina foram efetivas no controle de *P. xylostella*, com 100% de mortalidade das lagartas.

**Tabela 1.** Principais compostos bioativos de extratos botânicos ou isolados, suas fontes e nanotecnologia.

<b>Composto Ativo</b>	<b>Planta</b>	<b>Função</b>	<b>Nanotecnologia</b>	<b>Referências</b>
<b>Azadiractina</b>	Azadirachta indica	Inseticida e acaricida	Nanocápsulas Poliméricas	Forim et al. (2013); Da Costa et al. (2014)
<b>Rotenona</b>	Gênero Derris, Lonchocarpus e Tephrosia (Fabaceae)	Inseticida	Nanopartículas de Quitosana	Lao et al. (2010)
<b>Carvacrol</b>	Orégano e Tomilho	Inseticida e bactericida	Micropartículas Poliméricas	Martin et al. (2013)
<b>Timol</b>	Tomilho e Pimenta	Inseticida e bactericida	Nanopartículas de Quitosana	Keawchaoon & Yoksan (2011)
<b>Eugenol</b>	Cravo e canela	Inseticida, nematocida e bactericida	Micropartículas Poliméricas	Guarda et al. (2011)
<b>Curcumina</b>	Componente ativo do açafrão	Inseticida	Nanopartículas de Hidroxipropil celulose	Woranuch & Yoksan (2013)
				Bielska et al. (2013)

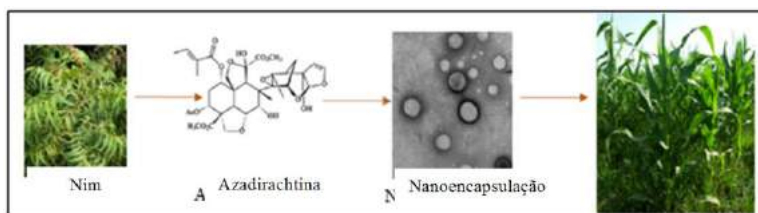
Adaptado de Oliveira et al. (2014).

## A Química na Produção Vegetal

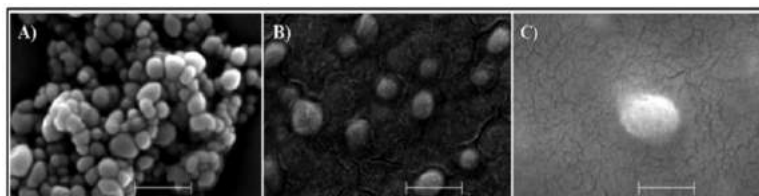
**Tabela 2.** Principais relatados envolvendo a associação de óleos essenciais de plantas com nanotecnologia.

Planta	Nanotecnologia	Referência
<i>Allium sativum</i>	Nanopartículas de Polietilenoglicol (PEG)	Yang et al. (2009)
<i>Lavandula angustifolia</i>	Nanoesferas poliméricas	Varona et al. (2010)
<i>Mentha x piperita</i> L.	Nanocápsulas poliméricas	Dong et al. (2011)
<i>Origanum vulgare</i>	Nanopartículas de Quitosana	Hosseini et al. (2013)
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	Nanopartículas de Quitosana	Ribeiro et al. (2013)
<i>Citrus sinensis</i>	Nanopartículas de Quitosana	Aloui et al. (2014)
<i>Ocimum basilicum</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Cinnamomum verum</i>	Nanocompositos de Alginato	Alboofetileh et al. (2014)
<i>Thymus vulgaris</i>	Filme Polimérico	Jouki et al. (2014)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Micropartículas Poliméricas	Fernandez et al. (2014)

Adaptado de Oliveira et al. (2014).



**Figura 3.** Representação esquemática da nanoencapsulação de inseticidas botânicos para agricultura sustentável. Adaptado de Oliveira et al. (2014).



**Figura 4.** Micrografia eletrônica de varredura de nanopartículas em suspensão coloidal carregada com azadiractina. As barras correspondem a 1 (A) e 0,5 µm (B e C). Adaptado de Forim et al. (2013).

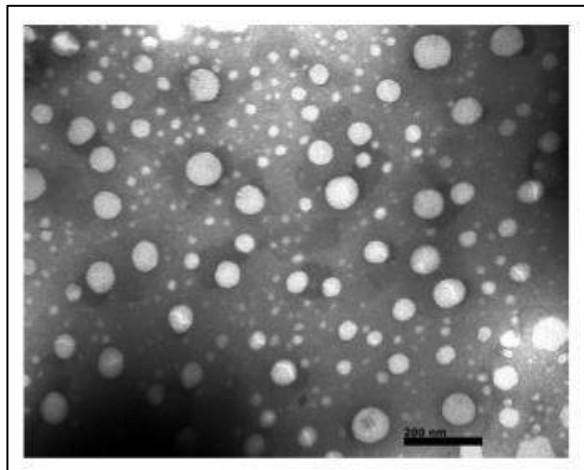
## Óleos essenciais

Óleos essenciais também podem ser utilizados em sistemas de nanopartículas, no qual os óleos vegetais são os compostos bioativos. Uma consideração importante é que o uso de óleos é muitas vezes limitado pela sua solubilidade e a necessidade de dispersá-los de forma a garantir sua ação efetiva. No entanto, as vantagens do uso de óleos essenciais incluem a presença de outros componentes que podem ter efeitos sinérgicos com os principais agentes ativos no óleo (Jiang et al., 2009).

Yang et al. (2009) preparam nanopartículas de PEG contendo óleo essencial de alho (*Allium sativum*) e a eficiência de encapsulamento foi de 80% (Figura 5). Após cinco meses de armazenamento, a formulação mostrou 80% de eficácia contra *Tribolium castanae* (Coleoptera: Tenebrionidae) e esse efeito foi atribuído à liberação lenta do componente ativo nas nanopartículas. Por sua vez, o óleo não encapsulado teve eficiência de controle de 11%. Os resultados demonstram que as nanopartículas oferecem um meio útil de controle de pragas.

Christofoli et al. (2015) estudaram a ação do óleo essencial de *Zanthoxylum rhoifolium* em mosca-branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) utilizando o polímero PCL. A eficiência de encapsulamento das nanoesferas formadas foi de 98,9% (Figura 6). Após sete horas de exposição a luz, o

óleo essencial *in natura* sofreu fotodegradação de 94,3%, enquanto que a degradação nas nanoesferas foi de 44,8%. Já a eficácia na redução do número de ovos da mosca-branca, com nanoesferas, foi superior a 95% e do número de ninfas, superior a 94%. Portanto, o potencial inseticida deste óleo essencial é melhorado com uso de nanotecnologia.

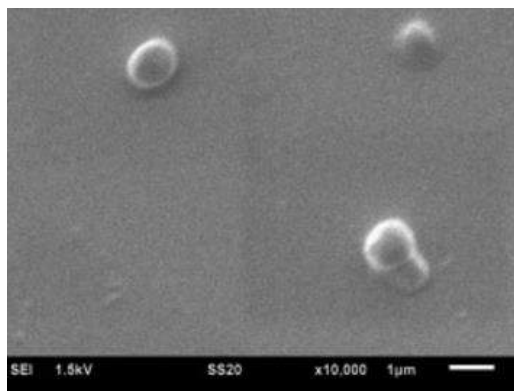


**Figura 5.** Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas com revestimento de PEG carregadas com óleo essencial de alho (Yang et al., 2009).

### *Nanotecnologia em inimigos naturais*

Há pouca informação sobre os efeitos dos extratos botânicos e óleos essenciais sobre insetos benéficos. Hohmann et al. (2002) demonstraram que ovos tratados com óleo de nim reduziram o parasitismo de *Tricogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), comumente utilizado em controle biológico de pragas. Raguran & Singh (1999)

também avaliaram o efeito do óleo de nim e constataram que houve deterrência para alimentação e oviposição do parasitóide *Tricogramma chilonis*.



**Figura 6.** Fotomicrografias de nanoesferas carregadas com óleo essencial de *Zanthoxylum rhoifolium*.

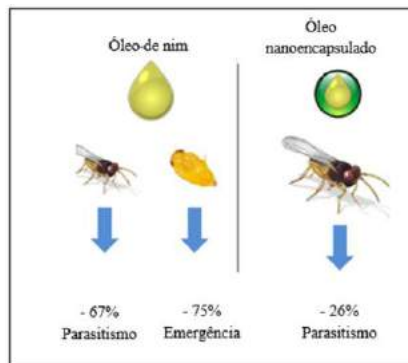
As formulações em nanoescala para inseticidas botânicos tem a vantagem de permitir boas condições de liberação do ingrediente ativo, aumentar a solubilidade, reduzir o contato dos trabalhadores agrícolas com os ingredientes ativos e reduzir a contaminação ambiental (Grupo ETC, 2005; Sassonet al., 2007). Porém, mesmo contornando essas desvantagens dos inseticidas botânicos, poucos estudos têm abordado os efeitos na utilização em conjunto com a nanotecnologia em pragas e inimigos naturais.

Rampelotti-Ferreira et al. (2016) avaliaram a seletividade dos extratos de Nim nanoencapsulado com poli-p-hidroxibutirato (PHB) em *T. pretiosum*. Os resultados obtidos para a susceptibilidade dos adultos



aos extratos botânicos indicam que a tecnologia de nanoencapsulação é efetiva, uma vez que os adultos expostos ao óleo de nim apresentaram redução de 67% no parasitismo de ovos, enquanto que os parasitóides em contato com a formulação nanoencapsulada apresentaram redução de 26% (Figura 7).

A nanotecnologia é uma alternativa prática para o desenvolvimento de biopesticidas mais eficientes, pois pode ser usado para criar materiais funcionais, dispositivos e sistemas por meio do controle do material na escala nanométrica (Durán & Azevedo, 2002). Os benefícios nas formulações nanoencapsuladas devem direcionar mais estudos nesta área, dessa maneira possibilitará o desenvolvimento de mais estratégias promissoras para o Manejo Integrado de Pragas utilizando agentes de controle biológico em conjunto com extratos de plantas e óleos essenciais.



**Figura 7.** Porcentagem de parasitismo e emergência de parasitoides expostos ao óleo de nim puro e nanoencapsulado. Adaptado de Rampelotti-Ferreira et al. (2016).

## *Encapsulamento formando uma barreira contra insetos em sistemas de embalagens ativas para alimentos*

O uso de extratos botânicos e óleos essenciais associados à nanotecnologia oferece um potencial considerável para o aprimoramento da qualidade e segurança dos alimentos (Gibney, 2015). A rejeição de alimentos embalados causada por insetos é um grande problema que tem afetado a indústria alimentícia em todo o mundo (Prasad et al., 2016).

A embalagem representa um passo crítico na preservação da qualidade dos alimentos e na defesa final contra insetos pragas. Os alimentos à base de cereais podem ser infestados por insetos, mesmo durante a sua vida de prateleira, ou seja, durante a distribuição, transporte e armazenamento em armazéns e lojas de varejo (Hanlon et al., 1998). Os insetos mais comuns em produtos armazenados são coleópteros (besouros) e lepidópteros (mariposas), distribuídos mundialmente em várias condições climáticas (Robertson, 2006).

A busca de ferramentas para prevenir as infestações de pragas é crucial, pois as soluções convencionais envolvem o uso de inseticidas sintéticos no ambiente onde o alimento seco é processado e embalado. A proteção dos produtos armazenados há muito tempo se baseiam no emprego de moléculas sintéticas, muitas destas substâncias tiveram seu uso proibido devido aos efeitos adversos provocados no meio ambiente e

aumento da resistência de pragas (Khater et. al., 2011). Assim, os esforços devem ser feitos na busca de sistemas efetivos, que possam retardar a deterioração da qualidade dos alimentos, mas também devam ser capazes de resistir à penetração de insetos e / ou mesmo promover repelência dos mesmos (Licciardello et al., 2010).

A embalagem é a última linha de defesa que protege os produtos alimentares da infestação de insetos (Licciardello et al., 2013). No entanto, quase todos os materiais de embalagens de alimentos são suscetíveis à invasão por insetos (Germinara et al., 2012), por meio de aberturas formadas a partir de costuras e fechamentos (Licciardello et al., 2010). Mesmo em pacotes hermeticamente fechados podem ser atacados por insetos que são atraídos pelos voláteis dos alimentos, que permeiam pelo material da embalagem (Kim et al., 2014).

Nos últimos anos, foram desenvolvidas novas tecnologias para embalagens de alimentos e, entre as quais se destacam as "embalagens ativas", que consiste em incorporar ao material da embalagem compostos ativos úteis para a proteção alimentar com efeito antioxidante e/ ou antimicrobiano. O uso de extratos de plantas em embalagens, com a finalidade de proteger o alimento contra insetos, pode facilitar a aceitação pelos reguladores de alimentos, bem como pelo público em geral (Whalon & Malloy, 1998).

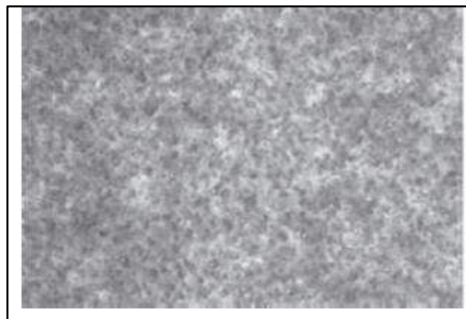
Wong et al. (2005) avaliaram o uso de cinco extratos de plantas comerciais (citronela, óleo de alho, extrato de nim, óleo de pinho e piretro) em

revestimentos de embalagens de papelão para repelir o besouro de farinha (*Tribolium castaneum*). A citronela foi efetiva em reduzir a infestação em caixas tratadas de cereais, flocos de aveia, frutos secos e germe de trigo. No extrato de citronela, entre seus componentes destacam-se por sua concentração os compostos limoneno e R-terpineol. Quando as caixas foram tratadas com citronela ocorreu à redução da infestação de besouro em aproximadamente 50% e o efeito repelente persistiu por 16 semanas.

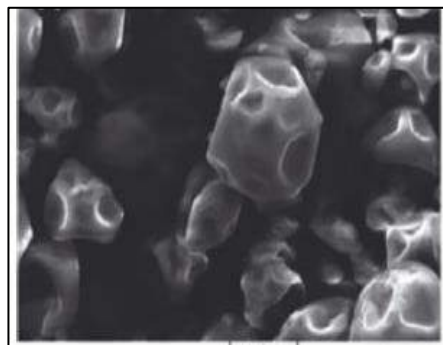
As tecnologias de revestimento e microencapsulação têm sido empregadas no desenvolvimento de materiais de embalagem de alimentos contra insetos. Kim et al. (2013) desenvolveram um filme contendo óleo de canela microencapsulado para proteger os alimentos contra a traça-da-índia (*Plodia interpunctella*). O óleo de canela encapsulado com goma arábica proporciona uma maior proteção contra pragas e também proporciona um maior controle na liberação do óleo.

Esse óleo encapsulado foi incorporado a uma tinta de impressão (Figura 8 e 9) e essa mistura foi aplicada em uma película de polietileno de baixa densidade (LDPE), como revestimento, a fim de transformar o filme laminado comum em um filme de embalagem de alimentos resistentes aos insetos. A superfície de LDPE revestida foi laminada com uma película de polipropileno. O filme laminado, contendo o óleo de canela microencapsulado, impediu a invasão de larvas de traça e as repeliu. Os períodos de tempo durante os quais o nível de cinamaldeído no filme

permaneceu acima de uma concentração mínima repelente, de acordo com a concentração, foram de 21, 21 e 10 dias para os cookies, chocolate e caramelo, respectivamente. O revestimento com tinta contendo o óleo de canela microencapsulado não alterou as propriedades de tração ou barreira da película laminada. A microencapsulação impediu efetivamente a volatilização do óleo de canela.



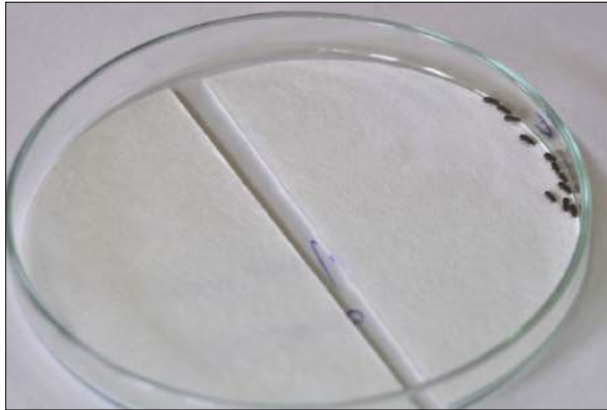
**Figura 8.** Micrografia da emulsão de microcápsulas feitas de goma arábica e óleo de canela. Adaptado de Kim et al. (2013).



**Figura 9.** Micrografias das microcápsulas feitas de goma arábica e óleo de canela. Adaptado de Kim et al. (2013).

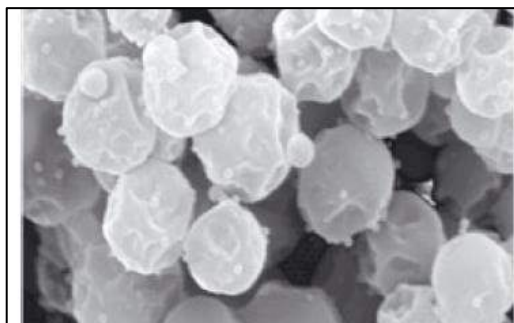
Licciardello et al. (2013) avaliaram a eficácia repelente de embalagens de polipropileno contendo

sêmola de trigo revestidas com três óleos essenciais: citronela (*Cymbopogon nardus*), orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), contra o besouro de farinha (*Tribolium castaneum*). Esses óleos são GRAS (geralmente reconhecido como seguro) de acordo com a Food and Drug Administration (FDA, 2012). Os resultados obtidos a partir de testes de área, que foram feitos com discos de papel filtro cortados na metade, onde uma parte foi tratada com os óleos essenciais e a outra não (controle), indicou que os óleos essenciais de citronela e alecrim exibiram atividades repelentes contra o besouro de farinha, uma das pragas de alimentos armazenados mais comum (Figura 10). O valor de repelência para o óleo essencial de citronela atingiu 90 e 100% após meia hora e uma hora de teste, respectivamente, na maior concentração avaliada em comparação com os outros óleos essenciais. Os ensaios realizados com embalagens revestidas contendo sêmola de trigo mostraram resultados de repelência dos insetos variando de 60 a 87% para citronela e alecrim, respectivamente. O aumento da eficácia é devido à ligação de óleo essencial ao filme de embalagem que, ao imobilizar o óleo essencial, evita sua perda por evaporação, o que garante uma liberação controlada.



**Figura 10.** Detalhe de uma placa durante o teste de preferência para a avaliação da repelência. Neste caso, todos os insetos são encontrados na metade do controle e o mais longe possível do óleo essencial. Adaptado de Licciardello et al. (2013).

Chung et al. (2013) microencapsularam óleo de tomilho utilizando pré-polímero de melamina-formaldeído como material de parede e 3 emulsionantes diferentes (plurônico F127, tween 80 e laurilsulfato de sódio) para avaliar as características gerais e o comportamento de liberação das microcápsulas e seu efeito repelente contra a traça-da-índia (*Plodia interpunctella*). A eficiência de encapsulamento foi de 77,5% para o laurilsulfato de sódio e a maior eficiência de carga também, pois esse material têm boa resistência térmica e superfície lisa (Figura 11). A taxa de liberação do óleo de tomilho das microcápsulas foi dependente da temperatura de armazenamento e do tipo de emulsionante. As dietas, misturadas com óleo de tomilho encapsulado, expressaram alta eficiência de repelência contra os insetos em 90% durante quatro semanas.



**Figura 11.** Imagens das microcápsulas com o emulsionante laurilsulfato de sódio. Adaptado de Chun et al. (2013).

### *Efeito na saúde humana/animal e meio ambiente*

Nas últimas décadas, há uma intensa preocupação em preservar a saúde humana/animal e o meio ambiente, e por isso espera-se que as atividades agropecuárias realizadas pelo homem acarretem o menor risco social e ambiental possível. A necessidade do momento é o desenvolvimento de tecnologias que possam melhorar a qualidade e o desempenho das produtividades das culturas com o mínimo de impacto (Kashyap et al., 2015). A busca por tecnologias associadas aos produtos fitossanitários visando a eficácia na aplicação cada vez maior também é desejável. Não apenas pela vantagem econômica, mas, sobretudo, pela redução do impacto ambiental, diminuição da toxidez para o homem durante o seu manuseio e aplicação e diminuição da carga poluente alimentada ao meio físico (Mattoso, 2005).



A aplicação de agroquímicos na produção alimentos está entre as práticas que causam maior efeito adverso ao meio ambiente, por favorecerem a destruição de sistemas biológicos, contaminação de águas superficiais e subterrâneas, além de poluição do solo. Neste sentido, nanotecnologia contribui de forma significativa para diversos seguimentos do agronegócio, principalmente na melhoria do desempenho, eficiência e economia dos insumos, por meio do desenvolvimento de nanopartículas e nanoencapsulação (ETC GROUP, 2004; Durán et al., 2005; Mattoso, 2005).

Assim, a aplicação da nanotecnologia por meio do desenvolvimento de nanopartículas e nanoencapsulação para fitoinseticidas tem a finalidade de melhorar a eficiência funcional de produtos, bem como a segurança no manuseio desses produtos, reduzindo riscos de contaminação para o homem, de concentrações elevadas do ingrediente ativo na lavoura e de contaminação ambiental. Tal abordagem está alinhada com as exigências pertinentes à preservação da qualidade de vida humana e redução dos riscos de contaminação do meio ambiente (Brito et al., 2011).

A nanoencapsulação pode reduzir os efeitos negativos das moléculas sintéticas no ambiente, pois traz como vantagem sobre as formulações convencionais um maior desempenho e eficiência do composto bioativo e menor risco potencial para o ambiente e para o homem (Gao et al., 2017). Com a encapsulação, o ingrediente ativo é liberado ao longo

do tempo permitindo aplicações menos frequentes e com menores concentrações. Dessa forma, o encapsulamento de inseticidas botânicos a base de extratos e óleos essenciais de plantas pode ser uma estratégia eficiente para o controle de pragas e doenças, além de ser uma proteção para os agricultores ao diminuir o contato com pesticidas e reduzir o risco de contaminação (Sarlak et al., 2014).

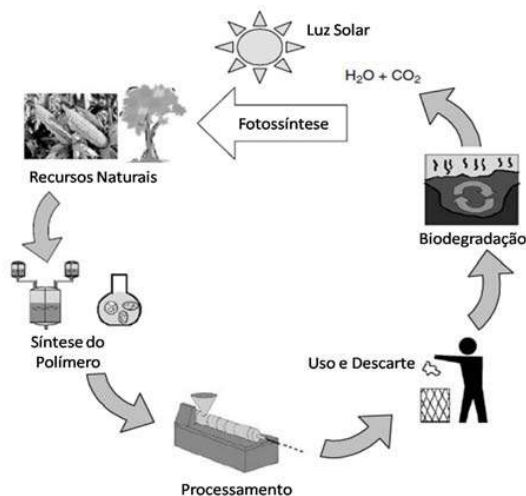
A produção e utilização de polímeros (biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes) surge como mais uma alternativa ao nanoencapsulamento, a qual, devido sua viabilidade técnica e econômica, apresenta grande potencial de expansão (Brito et al., 2011; Erbetta et al., 2011).

### *Polímeros e seus benefícios*

Os polímeros são constituídos de macromoléculas compostas por inúmeras unidades repetidas chamadas de monômeros (Sardella & Mateus, 1991). Já os monômeros são unidades orgânicas que quando se ligam formam cadeias distintas, obtidas por meio de um processo conhecido como polimerização. Geralmente, os monômeros são obtidos de fontes não renováveis, entretanto, novas fontes de monômeros tendem a surgir, originando materiais capazes de se degradarem naturalmente, não contaminando ou minimizando os impactos ambientais (Lima & Souza, 2011).

Estes novos polímeros sofrem decomposição por atividades enzimáticas de seres biológicos, onde a

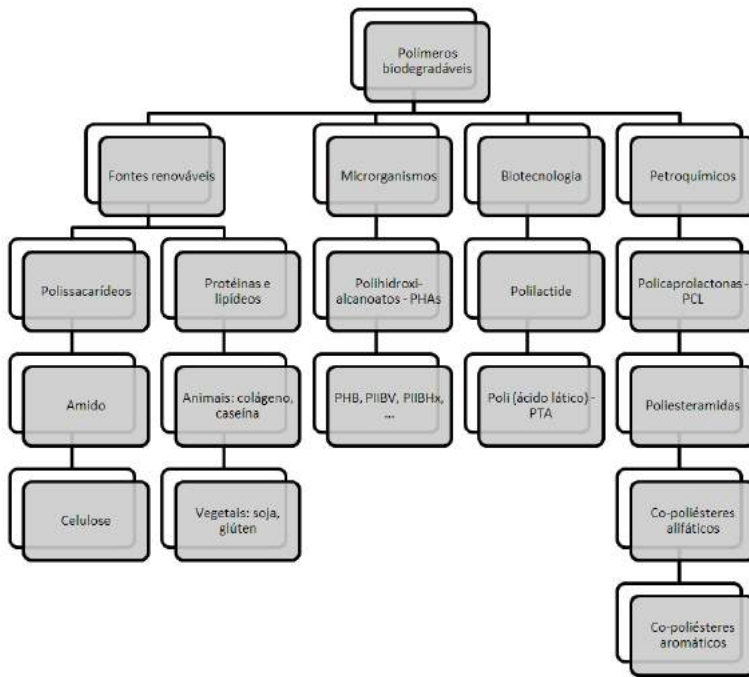
decomposição é catalisada, diminuindo assim seu tempo de vida na natureza. Seu processo de fabricação consiste na substituição das suas unidades monoméricas, inicialmente constituídas por espécies advindas do petróleo (não renováveis) por espécies renováveis como polissacarídeos, poliésteres ou poliamidas. Geralmente, estas unidades renováveis de carbono são derivadas de plantas como, por exemplo, a cana de açúcar (Scott, 1999). É possível relacionar alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção, conforme o fluxograma na Figura 12. Os benefícios da sua utilização estão relacionados ao menor impacto ambiental por ter um material de origem biodegradável o balanço positivo de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) após a compostagem, e a possibilidade de formação de um ciclo de vida fechado (Figura 13) (Brito et al., 2011).



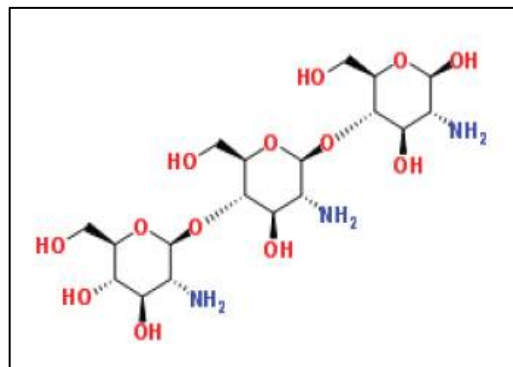
**Figura 12.** Ciclo de vida ideal dos polímeros biodegradáveis provenientes de fontes renováveis. Adaptado de Mohanty et al. (2005); Brito et al. (2011).

## *Quitosana*

A quitosana (Figura 14) é um polímero de D-glucosamina, derivada da desacetilação da quitina, sendo encontrada naturalmente na parede celular de fungos, principalmente aqueles da classe *Zygomycetes* (Stamford et al., 2007; Fai et al., 2008), que podem apresentar até 50% deste na sua estrutura (Zamani et al., 2010). Esse polissacarídeo é solúvel em soluções aquosas, diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos e apresenta uma excelente biocompatibilidade; quase nenhuma toxicidade ao ser humano e animais; alta bioatividade; biodegradabilidade; reatividade do grupo amino desacetilado; permeabilidade seletiva; ação polieletrólítica; atividade antimicrobiana; habilidade em formar gel e filme; habilidade de quelação e capacidade adsortiva (Synowiecki & Al-Khatteb, 2003; Tharanathan & Kittur, 2003; Singh et al., 2008). Tem sido utilizado na nanotecnologia como encapsulante natural biodegradável capaz de encapsular extratos e óleos essenciais de plantas (Kashyap et al., 2015).



**Figura 13.** Classificação de alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção. Adaptado de Avérous et al. (2008); Brito et al. (2011).



**Figura 14.** Estrutura química da quitosana. Adaptado de Ribas Barreto et al. (2015).

Para Kashyap et al. (2015), o uso de quitosana em pesticidas, micronutrientes e fertilizantes tem mostrado resultados promissores na redução da dose necessária para garantir a eficiência do produto.

### *Alginato de Sódio*

O alginato (Figura 15), ou algina, é um polímero biodegradável utilizado no processo de nanoencapsulação de inseticidas botânicos, e pesticidas convencionais (Tabela 3). Devido à sua biocompatibilidade e não toxicidade, o alginato de sódio tem sido usado como carreador para vários produtos agrícolas (Kumar et al., 2014). A liberação controlada utilizando o alginato como encapsulante reduz a taxa de liberação do encapsulado, controlando a distribuição de compostos de alta solubilidade em água (Fernández-Pérez et al., 2011). Dessa forma, a lixiviação e volatilização do ingrediente ativo são menores, uma vez que essas formulações apresentam doses menores (Otto et al., 2008). Com isso, é possível que o uso da encapsulação reduza a poluição de águas superficiais e de subsuperfícies com produtos usados para o controle de pragas.

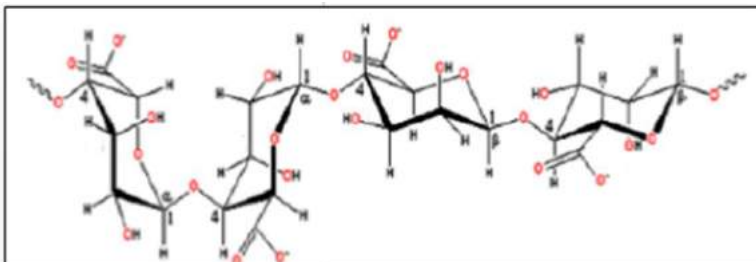
Tratando-se da necessidade urgente de se encontrar maneiras alternativas de práticas agrícolas sustentáveis que visem usar os recursos da forma mais eficiente possível para garantir rendimentos suficientes e reduzir os impactos ambientais. Os resultados obtidos por Kumar et al. (2014), que avaliaram a síntese e caracterização de nanopartículas

de alginato de sódio carregadas com imidacloprid (inseticida de ação sistêmica), revelam que nanopartículas poliméricas de alginato de sódio são importantes ferramentas para um melhor sistema de distribuição de pesticidas. Isso ocorre devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, melhor estabilidade, baixa toxicidade, métodos de preparação simples e suaves. Além disso, a formulação encapsulada a base desse extrato de plantas tem menor toxicidade que o pesticida de formulação convencional.

O uso de polímeros biodegradáveis na liberação controlada de moléculas de ação inseticidas contribui para reduzir os riscos e efeitos negativos ao meio ambiente e a saúde humana, porém ainda há o risco de toxicidade, no entanto, esse risco é menor quando utilizado polímeros naturais e extratos e óleos essenciais de plantas (Roy et al., 2014).

**Tabela 3.** Polímeros usados na agricultura.

Polissacarídeo	Princípio Ativo	Classe	Referência
<b>Alginato-quitosano</b>	Imidacloprid	Inseticida	Guan et al. (2008)
<b>Esferas de amido e alginato</b>	Thiram	Fungicida	Singh et al. (2009)
<b>Microesferas de alginato</b>	Ecdysone	Hormônio	Guan et al. (2011)
<b>Partículas de alginato</b>	Carbofuran	Inseticida/ nematicida	Fernández-Pérez et al. (2000)
<b>Nanoemulsão de alginato</b>	Azadirachtin	Biopesticida	Jerobin et al. (2012)
<b>Nanopartículas de alginato-quitosano</b>	Paraquat	Herbicida	Silva et al. (2011)
<b>Nanopartículas de quitosana</b>	Dichlorprop	Herbicida	Wen et al. (2011)
<b>Quitosana</b>	NPK	Fertilizante	Wu & Liu (2008)
<b>Quitosana</b>	Rotenone	Inseticida	Lao et al. (2010)



**Figura 15.** Estrutura química do alginato. Adaptada de Roy et al. (2014).

### *Perspectivas Futuras*

O uso da nanotecnologia é interessante, uma vez que pode ajudar a mitigar os impactos adversos dos agroquímicos no meio ambiente e na saúde humana. Como resultado, tem havido um aumento substancial da atividade de pesquisa nessa área. As principais dificuldades que precisam ser abordadas antes que esta tecnologia possa ser totalmente disponibilizada incluem a questão da escalabilidade da produção de nanocarreadores eficientes, bem como a produção de extratos, óleos essenciais e princípios ativos isolados nas quantidades necessárias para controlar insetos-pragas.

Desta forma, é possível que, no futuro próximo, surgirão produtos comerciais que combinem os benefícios do inseticida botânico com a nanotecnologia, em formulações menos prejudiciais para o ambiente. No entanto, mesmo com todos os benefícios, o uso da nanotecnologia, especialmente, na produção de alimentos, deve ser mais estudado



para não causar danos ao meio ambiente e a saúde humana, pois a aplicação dessa tecnologia é limitada, devido à falta de conhecimento advindo de sua utilização em larga escala.

O estudo do uso de extrato botânico e/ou óleo essencial encapsulado em embalagens de alimentos deve ser mais aprofundado considerando as substâncias ativas, doses, modos de aplicação e insetos alvos. A adoção de embalagens repelentes poderia reduzir o uso de embalagens com filmes espessos, que além de assegurar a prevenção contra insetos iria diminuir a sobre-embalagem (ou seja, o uso de grandes volumes de plástico, mais do que o necessário). Se a embalagem for à última fronteira contra os insetos-pragas, então as embalagens repelentes podem representar a melhor arma no manejo de pragas de produtos armazenados.

### *Referências*

ABHILASH, P.C.; SINGH, N. Pesticides use and application: An Indian scenario. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p.1-12, 2009.

AHAMMADSAHIB, K.I.; HOLLINGWORTH, R.M.; MCGOVREN, J.P.; HUI, Y.H.; MCLAUGHLIN, J.L. Mode of action of bullatacin: A potent antitumor and pesticidal annonaceous acetogenin. **Life Sciences**, v. 53, n. 14, p. 1113-1120, 1993.

ARISAWAS, H.; BRILL, T.B. Kinetics and mechanisms of flash pyrolysis of poly (methyl

methacrylate, MMA). **Combustion and Flame**, v. 109, p. 415, 1997.

ASBAHANI, E.A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A.E.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F.N.R.; ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220-243, 2015.

AVÉROUS, L. Polylactic Acid: Synthesis, properties and applications. In: BELGACEM, M.N.; GANDINI, A. **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Oxford: Elsevier, 2008. 553 p.

AZEREDO, H.D. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16, p. 89-97, 2008.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, n. 7, p. 1273-1335, 1998.

CHRISTOFOLI, M.; COSTA, E.C.C.; BICALHO, K.U.; CASSIA, D.V. de.; PEIXOTO M.F.; ALVES, C.C.F.; M, C. de. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 301-308, 2015.

CHUNG, S.K.; SEO, J.Y.; LIM, J.H.; PARK, H.H.; YEA, M.J.; PARK, H.J. Microencapsulation of essential

oil for insect repellent in food packaging system. **Journal of Food Science**, v.78, n. 5, 2013.

CHUNG, S.K.; SEO, J.Y.; LIM, J.H.; PARK, H.H.; YEA, M.J.; PARK, H.J.; CLOYD, R.A.; CHIASSON H. Activity of an essential oil derived from *Chenopodium ambrosioides* on greenhouse insect pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, p. 459–466, 2007.

DAYAN, E.F.; CANTRELL, C.L.; STEPHEN, O. Natural products in crop protection. **Duke Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4022–4034, 2009.

DHALIWAL, G.; JINDAL, V.; DHAWAN, A. Insect pest problems and crop losses: changing trends. **Indian Journal of Ecology**, v. 37, n. 1, p. 1-7, 2010.

DURÁN, N.C.; MATTOSO, L.H.C.; MORAIS, P.C. **Nanotecnologia: introdução preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicações**. São Paulo: Artliber, 2005. 208 p.

ERBETTA, C.D.C.; VIEGAS, C.C.V.; FREITAS, R.F.S.; SOUZA, R.G. Síntese e caracterização térmica e química do copolímero poli (D,L-lactídeo-co-glicolídeo). **Polímero**, v. 21, n. 5, p. 376-382, 2011.

ETC GROUP. 2004. **Down on the farm: the impact of nano-scale technologies on food and agriculture**. Disponível em: <<http://www.etcgroup.org>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

ETC GROUP. 2005. **Report Prepared for the South Centre - The Potential Impacts of Nano-Scale Technologies on Commodity Markets: The Implications for Commodity Dependent Developing Countries, 2005**. Disponível em:

<<http://www.etcgroup.org/en/node/45>>. Acesso em 19 de julho de 2017.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, n. 5, p. 435-451, 2008.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. **Code of Federal Regulations**, Título 21, Volume 3, Revisado em 1º de abril, Sec. 182, 20, 2012.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; GONZÁLEZ-PRADAS, E.; VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M.; FLORES-CÉSPEDES, F. Mobility of isoproturon from an alginate-bentonite controlled release formulation in layered soil. **Chemosphere**, v. 41, n. 9, p. 1495-1501, 2000.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M.; FLORES-CÉSPEDES, F.; DAZA-FERNÁNDEZ, I. Ethylcellulose and lignin as bearer polymers in controlled release formulations of chloridazon. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1672-1679, 2011.

FORIM, M.R.; COSTA, E.S.; SILVA, M.F.G.F.; FERNANDES, J.B.; MONDEGO, J.M.; BOIÇA JR, A.L. Development of a new method to prepare nano-/microparticles loaded with extracts of *Azadirachta indica*, their characterization and use in controlling *Plutella xylostella*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 9131-9139, 2013.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in**

**Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 273-283, 2015.

GAO, Z.; PANG, L.; FENG, H.; WANG, S.; WANG, Q.; WANG, M.; XIA, Y.; HU, S. Preparation and characterization of a novel imidacloprid microcapsule via coating of polydopamine and polyurea. **RSC Advances**, v. 7, n. 26, p. 15762-15768, 2017.

GERMINARA G.S.; CONTE, A.; CRISTOFARO, A.; LECCE, L.; DI PALMA, A.; ROTUNDO, G.; DEL NOBILE, M.A. Electrophysiological and behavioral activity of (E)-2-hexenal in the granary weevil and its application in food packaging. **Journal of Food Protection**, v. 75, p. 366-70, 2012.

GHORMADE, V.; DESHPANDE, M.V.; PAKNIKAR, K.M. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 792-803, 2011.

GUAN, H.; CHU, D.; YU, J.; LI, H. Encapsulated ecdysone by internal gelation of alginate microspheres for controlling its release and photostability. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, n. 1, p. 94-101, 2011.

GUAN, H.; CHU, D.; YU, J.; LI, X. A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 92, n. 2, p. 83-91, 2008.

HANLON, J.F.; KELSEY, R.J.; FORCINIO, H.E. **Handbook of package engineering**. Boca Raton: CRC Press, 1998. 698 p.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45–66, 2006.

PARDEIKE, J.; SCHWABE, K.; MULLER, R. H. Influence of nanostructured lipid carriers (NLC) on the physical properties of the Cutanova Nanorepair Q10 cream and the in vivo skin hydration effect. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 396, n. 2, p. 166-173, 2010.

JEROBIN, J.; SURESHKUMAR, R.S.; ANJALI, C.H.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Biodegradable polymer based encapsulation of neem oil nanoemulsion for controlled release of Aza-A. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1750-1756, 2012.

KASHYAP, P.L.; XIANG, X.; HEIDEN, P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p. 36-51, 2015.

KHATER, H. F. Ecosmart biorational insecticides: alternative insect control strategies. **Integrated Pest Management**, v. 2, p. 17–60, 2011.

KHATER, H.F.; HANAFY, A.; MAGEED, A.D.A.; RAMADAN, M.; MADAWY, H. F.E. Control of the myiasis-producing fly, *Lucilia sericata*, with Egyptian essential oils. **International Journal of Dermatology**, v.50, n. 2, p. 187-194, 2011.

KIM, I.H.; HAN, J.; NA, J.H.; CHANG, P.S.; CHUNG, M.S.; PARK, K.H.; MIN, S.C. Insect-resistant food packaging film development using cinnamon oil

and microencapsulation technologies. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 229–37, 2013.

KIM, I.H.; SONG, A.Y.; HAN, J.; PARK, K.H.; MIN, S.C. Indian meal moth (*Plodia interpunctella*) resistant food packaging film development using microencapsulated cinnamon oil. **Journal of Food Science**, v. 79, n.10, 2014.

KÖHLER, H.R., TRIEBSKORN, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond. **Science**, v. 341, p. 759–765, 2013.

KUMAR, S.; BHANJANA, G.; SHARMA, A.; SIDHU, M.C.; DILBAGHI, N. Synthesis, characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 1061-1067, 2014.

KUMARI, A.; YADAV, S.K.; YADAV, S.C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, p. 1-18, 2010.

LAO, S.B.; ZHANG, Z.X.; XU, H.H.; JIANG, G.B. Novel amphiphilic chitosan derivatives: Synthesis, characterization and micellar solubilization of rotenone. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1136-1142, 2010.

LICCIARDELLO, F.; COCUZZA, G.E.; RUSSO, A.; MURATORE, G. Quality maintenance performance and resistance to *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella* penetration of an alternative packaging material for semolina. **Italian Journal of Food Science**, v. 22, n. 4, p. 461–466, 2010.

LICCIARDELLO, F.; MURATORE, G.; SUMA, P.; RUSSO, A.; NERÍN, C. Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 173–180, 2013.

LIMA, R.M.F.; SOUZA, V.V. Polímeros Biodegradáveis: Aplicação na agricultura e sua utilização como alternativa para a proteção ambiental. **Revista Agrogeoambiental**, v. 3, n. 1, p. 75-82, 2011.

LIU, Y.; TONG, Z.; PRUD'HOMME, R.K. Stabilized polymeric nanoparticles for controlled and efficient release of bifenthrin. **Pest Management Science**, v. 64, n. 8, p. 808-812, 2008.

MATTOSO, L.H.C.; MEDEIROS, E.S.; MARTIN NETO, L. A revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. **Revista de Política Agrícola**, ano 14, n. 4, p. 38-46, 2005.

McCLEMENTS, D.J. Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 174, p. 1–30, 2012.

MOHANTY, A.K.; MISRA, M.; DRZAL, L.T.; SELKE, S.E.; HARTE, B.R.; HINRICHSEN, G. Natural fibers, biopolymers, and biocomposites: an introduction. In: MOHANTY, A.K.; MISRA, M.; DRZAL, L.T. (Eds). **Natural fibers, biopolymers, and biocomposites**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. p. 709–714.

OLIVEIRA, E.F.; PAULA, H.C.B.; PAULA, R.C.M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil



encapsulation. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146-151, 2014.

OTTO, D.P.; VOSLOO, H.C.; LIEBENBERG, W.; DE VILLIERS, M.M. Development of microporous drug-releasing films cast from artificial nanosized latexes of poly (styrene-co-methyl methacrylate) or poly (styrene-co-ethyl methacrylate). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 3, p. 1121-1134, 2008.

PAVELA, R. Possibilities of botanical insecticides exploitation in plant protection. **Pesticide Technology**, v. 1, p. 47-52, 2007.

PERES, L.B. **Obtenção de Nanopartículas de PLLA e Nanopartículas Blenda PLLA/PMMA e PLLA/PS para Incorporação de um Análogo da isoniazida**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, p. 123. 2012.

PERLATTI, B.; BERGO, P.L.S.; SILVA, M.F.G.F.; FERNANDES, J.B.; FORIM, M.R. Polymeric nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for agrochemicals. In: TRDAN, S. (Ed.). **Insecticides – Development of safer and more effective technologies**. Rijeka: InTech Open, 2013. p. 521-548.

PRASAD, R.; KUMAR, V.; PRASAD, K.S. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 705-713, 2014.

PRASAD, R.; PANDEY, R.; BARMAN, I. Engineering tailored nanoparticles with microbes: quo

vadis. **WIRES Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, p. 316–330, 2016.

RAI, M.; INGLE, A. Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 94, n. 2, p. 287-293, 2012.

RAO, J.P.; GECKELER, K.E. Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 887–913, 2011.

RIBAS BARRETO, A.; RAMÍREZ-MÉRIDA, L.G.; ETCHEPARE, M.A.; JACOB-LOPES, E.; DE MENEZES, C.R. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 164-174, 2015.

ROBERTSON, G.L. **Food packaging: Principles and practice**. Boca Raton: CRC Press. 2012, 733 p.

ROY, A.; SINGH, S.K.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A.K. Controlled pesticide release from biodegradable polymers. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 453-469, 2014.

SARDELA, A.; MATEUS, E. **Curso de Química: Química Orgânica**. São Paulo: Ática. 1991, 455 p.

SARLAK, N.; TAHERIFAR, A.; SALEHI, F. Synthesis of nanopesticides by encapsulating pesticide nanoparticles using functionalized carbon nanotubes and application of new nanocomposite for plant disease treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 21, p. 4833-4838, 2014.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos

nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCOTT, G. **Polymers and the environment**. Birmingham: RSC Paperbacks (The Royal Society of Chemistry). 1999, 148p.

SCOTT, N.R.; CHEN, H. 2002. **Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems**. Roadmap Report of National Planning Workshop. Cooperative State Research, Education and Extension Service of the United States Department of Agriculture. Disponível em: <[www.nseafs.cornell.edu/web.roadmap.pdf](http://www.nseafs.cornell.edu/web.roadmap.pdf)>. Acesso em 27 de julho de 2017.

SILVA, M.D.S.; COCENZA, D.S.; GRILLO, R.; DE MELO, N.F.; TONELLO, P.S.; DE OLIVEIRA, L.C.; CASSIMIRO, D.L.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, n. 1-3, p. 366-374, 2011.

SINGH, B.; SHARMA, D.K.; GUPTA, A. A study towards release dynamics of thiram fungicide from starch–alginate beads to control environmental and health hazards. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 1, p. 208-216, 2009.

SINGH, T.; VESENTINI, D.; SINGH, A.P.; DANIEL, G. Effect of chitosan on physiological, morphological and ultrastructural characteristics of wood degrading fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 62, n.2, p. 116-124, 2008.

STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M.; STAMFORD, N.P.; NETO, B.B.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.

Growth of *Cunninghamella elegans* UCP 542 and production of chitin and chitosan using yam bean medium. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 61-69, 2007.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATTEB, N.A.A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 2, p. 145-171, 2003.

THARANATHAN, R.N.; KITTUR, F.S. Chitin--the undisputed biomolecule of great potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 61-87, 2003.

WANG, H.; WANG, Z.; SONG, D.; WANG, J.; GAO, J.; WANG, L.; KONG, D.; YANG, Z. Enzyme-assisted formation of nanosphere: a potential carrier for hydrophobic compounds. **Nanotechnology**, v. 21, n. 15, p. 155-602, 2010.

WEN, Y.; CHEN, H.; YUAN, Y.; XU, D.; KANG, X. Enantioselective ecotoxicity of the herbicide dichlorprop and complexes formed with chitosan in two fresh water green algae. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 4, p. 879-885, 2011.

WENJUAN, Y.; SHEN, C.; JI, Q.; AN, H.; WANG, J.; LIU, Q.; ZHANG, Z. Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. **Nanotechnology**, v.20, p.1-7, 2009.

WHALON, M.E.; MALLOY, G.E. **Insect repellent coatings**. U.S. Patent, 1998.

WONG, K.K.Y.; SIGNAL, F.A.; CAMPION, S.H.; MOTION, R.L. Citronella as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4633–4636, 2005.

WU, L.; LIU, M. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 2, p. 240-247, 2008.

YADAV, K.S.; SAWANT, K.K. Formulation optimization of etoposide loaded plga nanoparticles by double factorial design and their evaluation. **Current Drug Delivery**, v. 7, p. 51–64, 2010.

YIM, Z.H.; TIONG, C.B.; MANSA, R.F.; RAVINDRA, P.; CHAN, E.S. Release kinetics of encapsulated herbal antioxidants during gelation process. **Journal of Applied Sciences**, v. 10, n. 21, p. 2668-2672, 2010.

ZAMANI, A.; EDEBO, L.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M.J. Temperature shifts for extraction and purification of zygomycetes chitosan with dilute sulfuric acid. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 8, p. 2976-2987, 2010.



CAPÍTULO

# 5

## INIBIDORES DE PROTEASES NO CONTROLE DE INSETOS- PRAGA

**Jéssica Emiliane Rodrigues Gorri** <sup>(1,3)</sup>

**Liliane Evangelista Visôto** <sup>(2,3)</sup>

**Inêz de Fátima Martins Oliveira** <sup>(1)</sup>

**Mariana Rocha Roswell** <sup>(2)</sup>

**Camila Miwa Hanzawa** <sup>(2)</sup>

**Manuela Pereira Souto** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mails: jessica.rodrigues@ufv.br; inezoliveirasf@gmail.com; manuela.souto@ufv.br. <sup>(2)</sup>Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: lvisotto@ufv.br; mariana.roswell@ufv.br; miwa\_camila@hotmail.com. <sup>(3)</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil.

### *Introdução*

Um dos principais desafios da agricultura é aumentar a produtividade com concomitante redução da dependência dos agroquímicos. Dessa forma, inúmeros estudos relacionados à defesa endógena das plantas contra a herbivoria, vêm sendo realizados nos últimos anos. A utilização da resposta própria da defesa vegetal é crucial para a obtenção de culturas mais sustentáveis. Como exemplo, pode-se citar o

desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas que superexpressam genes de defesa, que culminam com o aumento do espectro de resposta de resistência a insetos-praga.

A síntese de compostos antimetabólicos, responsáveis por afetar algum dos processos fisiológicos dos insetos, é uma estratégia de defesa utilizada extensivamente pelas plantas. Tais compostos podem ser sintetizados de forma constitutiva, particularmente em tecidos vulneráveis ao ataque de pragas, ou podem ser induzidos pelo ferimento mecânico, ou aqueles causados pela herbivoria (Jongsma & Bolter, 1997).

Um dos exemplos clássicos de compostos antimetabólicos utilizados na defesa vegetal são os inibidores de proteases (IPs). Essas moléculas estão presentes em folhas, flores, sementes e tubérculos. Elas promovem o bloqueio, alteram ou impedem o acesso dos substratos aos sítios ativos das proteases, limitando a liberação de aminoácidos das proteínas consumidas pelos herbívoros. Como consequência, há redução na aptidão geral dos insetos, falhas no seu crescimento, desenvolvimento e eventual morte por inanição (Macedo et al., 2004; Moreira et al., 2011). As plantas que produzem e estocam inibidores, os utilizam como meio de defesa, não sendo eles capazes de afetar sua própria estrutura e fisiologia (Tremacoldi, 2009).

Dessa forma, uma revisão no progresso dos trabalhos que objetivam o desenvolvimento de plantas resistentes a insetos-praga, é considerada



nesse capítulo, tendo como alvo particularmente, a utilização de IPs.

### *Proteases*

Protease, também denominada peptidase ou enzima proteolítica, é um grupo de enzimas responsável pela hidrólise de proteínas em peptídeos e aminoácidos livres (Jongsma & Bolter, 1997). Elas são consideradas como um subgrupo das hidrolases, e foram inicialmente classificadas como endopeptidases, que possuem como alvo ligações peptídicas internas, e exopeptidases (aminopeptidases e carboxipeptidases), que são direcionadas aos grupos  $\text{NH}_2$  e  $\text{COOH}$  terminal de seus substratos correspondentes, apresentando atividade sobre ligações amida ou éster (López-Otín & Bond, 2008).

Com o desenvolvimento de técnicas que permitiram a determinação estrutural e o mecanismo de ação dessas enzimas, um novo modelo de classificação foi proposto. Atualmente, a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular reconhece quatro classes de endoproteases, classificadas de acordo com seu mecanismo catalítico, o que implica na especificidade de seu sítio ativo (Rábade et al., 2011). Estas classes compreendem seis famílias (serino protease I, serino protease II, cisteíno protease, aspártico protease, metalo protease I e metalo protease II) (Tremacoldi, 2009). As três primeiras classes utilizam um resíduo de aminoácido funcional (Ser I, Ser II e Cis, respectivamente)

localizado no sítio ativo, como um nucleófilo que ataca a ligação peptídica do substrato. Enquanto a aspártico e a metalo proteases utilizam uma molécula de água como agente nucleófilo (Lópes-Otín & Bond, 2008). A classificação, características e exemplos das diferentes classes de proteases estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação e características das diferentes classes de proteases.

Classificação	Características	Exemplos
<b>Serino Proteases</b> (E.C.3.4.21)	- Possui Asp-Ser-His no seu sítio ativo. - Atuam em pH 7-11	Tripsina Quimotripsina Elastase Subtilisina
<b>Cisteíno Proteases</b> (E.C.3.4.22)	Possui Cis-His-Asp no seu sítio ativo. - Ativas em pH neutro	Papaína Bromelina Ficina Catepsina
<b>Aspártico Proteases</b> (E.C.3.4.23)	- Possui um resíduo Asp no seu sítio ativo. - Atuam em pH ácido	Pepsina Renina Proteases microbianas
<b>Metallo-Proteases</b> (E.C.3.4.24)	- Dependem de metais divalentes para exercem a catálise enzimática - Atuam em pH neutro ou alcalino	Carboxipeptidase A Termolisina

E.C.: *Enzyme Comission Numbers*, esquema de classificação numérica para enzimas, baseadas nas reações que catalisam.

As proteases também são agrupadas em famílias, com base na comparação da sequência de aminoácidos e as famílias podem ser classificadas em clãs, com base nas semelhanças em suas estruturas tridimensionais. A análise de bioinformática das sequências do genoma foi decisiva para o estabelecimento de dimensões da complexidade dos sistemas proteolíticos operando em diferentes organismos (Lópes-Otín & Bond, 2008).

As enzimas proteolíticas são produzidas por animais, plantas e microrganismos (Joanitti et al., 2006). Nos animais, a grande maioria das proteases é sintetizada no estômago, pâncreas e intestino, como é o caso da pepsina, tripsina, quimotripsina e renina. Alguns tipos vegetais também sintetizam proteases, como a papaína, uma cisteíno protease extraída do látex de frutos do mamoeiro (*Carica papaya*); a bromelina, que é também classificada como cisteíno protease e extraída do pedúnculo e dos frutos do abacaxizeiro (*Ananas cosmosus*) e ficina, extraída do látex de diversas espécies de fícus. As bactérias do gênero *Bacillus* são as mais bem estudadas quanto à produção de proteases, sendo a subtilisina e a termolisina produzida pelo *Bacillus subtilis* e *Bacillus thermoproteolyticus*, respectivamente, as mais caracterizadas. Os fungos são os mais versáteis na produção de proteases, sendo capazes de sintetizar serino, aspartato, cisteíno e metalo-proteases. Em geral, as proteases fúngicas são secretadas pelas células e em conjunto com outras enzimas, exercem um papel importante na patogênese. Proteases virais, em especial das classes das serino e aspartico proteases, estão relacionadas ao processamento de proteínas da cápsula viral (Rao et al., 1998; Tremacoldi, 2009).

Tipicamente, as proteases contem um prodomínio que deve ser removido para ativar a enzima. A atividade de muitas proteases também depende do pH, indicativo do compartimento onde elas estão

localizadas e da presença de inibidores ou ativadores endógenos.

Quanto as funções a nível celular das proteases, pode-se citar: a remoção de proteínas anormais/ mal-dobradas/ modificadas e mal direcionadas; fornecimento de aminoácidos necessários para a síntese de novas proteínas; contribuição para a maturação dos zimógenos e hormônios peptídicos através de clivagens limitadas; controle do metabolismo e homeostase, alcançado através da abundância de enzimas e proteínas reguladoras e clivagem dos sinais de segmentação de proteínas antes de sua integração final nas organelas (Rábade et al., 2011).

Funções fisiológicas complexas também são exercidas pelas proteases. De modo geral, elas participam do catabolismo de proteínas, digestão protéica, ativação de zimogênios, liberação de hormônios, coagulação sanguínea, crescimento e migração celular, formação de tecidos, nos processos inflamatórios e no desenvolvimento de tumores. Os processos que mais requerem a participação destas enzimas são renovação de proteínas, esporulação e germinação de esporos, modificação enzimática, nutrição e regulação da expressão gênica (Rao et al., 1998; Tremacoldi, 2009).

### *Proteases de Insetos*

Os insetos são um dos grupos de organismos evolutivamente mais bem adaptados do planeta, e tal

adaptação deve-se a sua habilidade de explorar diversos habitats e fontes de energia. Esse fato também pode estar relacionado ao processo digestivo desses organismos. Muitos aspectos da biologia, incluindo o comportamento, a fisiologia e a ecologia dos insetos, estão de uma ou outra maneira, inseridos dentro de um contexto alimentar (Panizzi & Parra, 2009).

As múltiplas proteases digestivas desempenham papéis bioquímicos e fisiológicos de grande importância para o correto desenvolvimento dos insetos. Elas promovem ativação de proteínas, produção de peptídeos bioativos, digestão de alimentos, absorção de nutrientes, controle do tamanho de proteínas e auxiliam na resposta imune (Jongsma & Bolter, 1997; Macedo et al., 2015).

Em geral, insetos com hábitos alimentares distintos, surpreendentemente, apresentam um repertório de enzimas digestivas bastante similares (Dias et al, 2015). Inúmeros estudos têm comprovado que, diversas classes de proteases atuam no sistema digestivo de insetos e estas enzimas são, em termos quantitativos, as mais abundantes desse sistema (Zibae & Hajizadeh, 2013; Roudsari et al., 2014; Kuwar et al., 2015).

Por muito tempo acreditou-se que apenas serino proteases, como tripsina e quimotripsina, e proteases aspárticas, como a pepsina atuavam na digestão dos insetos (McFarlane, 1985). Entretanto, estudos mais recentes demonstraram que várias outras classes de proteases também são encontradas

no intestino desses organismos (Tremacoldi, 2009). As cisteíno proteases, por exemplo, são utilizadas no processo digestivo, mas também são encontradas em outros tecidos, sugerindo outras possíveis funções (Macedo & Freire, 2011). Há a hipótese de que a presença de cisteíno proteases pode ser fruto de uma adaptação evolucionária, que permitiu aos insetos alimentarem-se de sementes de leguminosas e de outros tecidos de plantas que são naturalmente ricos em inibidores de serino proteases (Ryan, 1990). Além disso, a família da papaína, uma cisteíno protease, é constituída por proteases que exercem inúmeras atividades. Como por exemplo, endopeptidases com ampla especificidade, como a papaína; endopeptidases com baixa especificidade, como a glicilendopeptidase; as aminopeptidases; dipeptidil-peptidase e peptidases com ambas atividades, endo e exopeptidases, como é o caso das catepsinas B e H. Outros membros dessa família exercem papéis diferentes da atividade catalítica. Todas as papaína-like possuem sequências e estrutura tridimensional similares. Tal fato fornece forte evidência de que essa protease vem de um ancestral comum (Dubey et al., 2007; Macedo & Freire, 2011).

Estudos filogenéticos, evolutivos e comparativos do transcriptoma elucidaram os tipos de proteases e os locais de atuação dessas enzimas no aparelho digestivo de insetos de diferentes ordens. Os resultados sugerem que em *Tenebrio molitor* (Coleoptera) as proteínas são continuamente digeridas por cisteíno proteases no intestino anterior

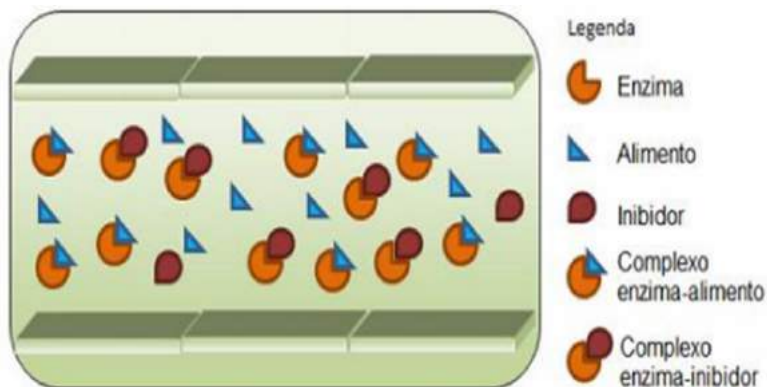
e posteriormente por serino proteases localizadas no lúmen e na superfície das células do intestino posterior (Terra et al. 1985). Já a digestão da lagarta militar, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera), inicialmente ocorre no ambiente altamente alcalino do intestino médio, pela ação das serino proteases associadas a membrana peritrófica (Ferreira et al., 1994). Serino proteases, também são abundantes no trato digestivo da lagarta-do-algodão, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera) (Srinivasan et al., 2006), sendo as principais a tripsina e quimotripsina, ambas constituídas por cerca de 260 aminoácidos (Chikate et al., 2013). Estas enzimas são liberadas extracelularmente no lúmen intestinal e são ativas em pH alcalino, como o do intestino médio da lagarta (Johnston et al., 1991; Purcell et al., 1992). Na *Musca domestica* (Diptera) lisozima e catepsina D, uma cisteíno protease, trabalham juntas, na porção mediana do intestino, para degradar bactérias, sua principal fonte de alimento (Espinoza-Fluentes & Terra, 1987). No hemiptera, *Dysdercus peruvianus*, as regiões V2 e V3 são as responsáveis pela digestão proteica, catalisada principalmente pela catepsina L, e pela absorção de aminoácidos (Silva & Terra, 1994; Gazara et al., 2017).

### *Inibidores de Proteases*

A princípio qualquer molécula capaz de reduzir a razão de hidrólise de um dado substrato é considerada um inibidor enzimático. Assim,

compostos capazes de associarem as enzimas proteolíticas, promovendo a inibição da atividade destas, são denominados inibidores de proteases. Os IPs existem sob diferentes formas, sua massa molecular varia de 10 a 90 KDa, na maioria dos casos (Neurath, 1990; Tremacoldi, 2009), e são frequentemente agrupados com base em seus mecanismos reacionais, origem ou similaridade estrutural. Quanto à especificidade, três grupos podem ser reconhecidos: aqueles que reagem com mais de uma classe de proteases, aqueles que são específicos para uma das classes e os inibidores que apresentam alta especificidade para uma única protease (Perona & Craik, 1995; Tremacoldi, 2009). Quanto ao mecanismo reacional, existem dois principais grupos, *trapping* inibidor e *tight-binding* inibidor. O primeiro tipo forma um complexo irreversível com as proteases alvo, enquanto o segundo grupo forma uma forte interação, porém reversível (Gubb et al., 2010). A figura 1 apresenta um exemplo de mecanismo de ação de um IP, onde uma parcela das enzimas é temporariamente inativada pela formação do complexo enzima-inibidor, diminuindo a eficiência do processo digestório do organismo alvo.





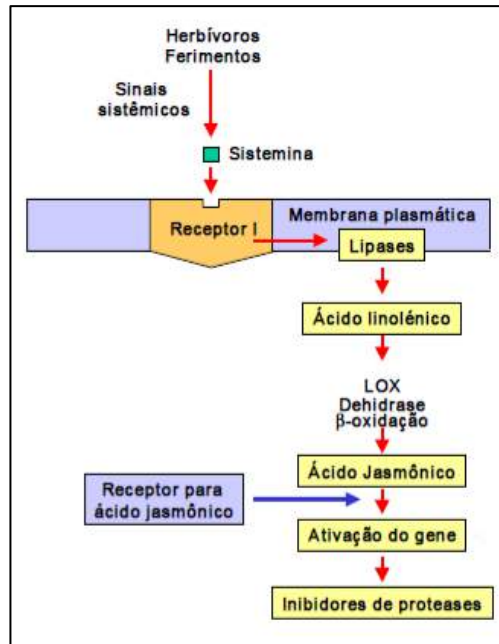
**Figura 1.** Representação do processo digestório na presença de inibidores de protease. Fonte: Oliveira & Macedo (2011).

O trabalho realizado por Green & Ryan (1972), que identificou IPs como produto da resposta ao ferimento das plantas e os relacionou ao ataque herbívoro, foi crucial para alavancar estudos com IPs, como fonte de resistência das plantas aos insetos (Gatehouse, 2011). O modelo de resposta das plantas através dos IPs foi proposto vinte anos mais tarde, em 1992 por Farmer & Ryan, e este envolve a ação das lipoxigenases (LOX). As LOX constituem uma família heterogênea de enzimas que atuam na peroxidação lipídica. São amplamente distribuídas nas plantas e no reino animal (Baysal & Demirdoven, 2007; Holkova et al., 2009). A maioria das lipoxigenases é solúvel, algumas estão presentes nos cloroplastos, mitocôndrias ou vacúolos. A principal característica das LOX na defesa das plantas trata-se da oxidação do seu derivado ácido linolênico em ácido jasmônico.

Os ferimentos provocados pela herbivoria e dano mecânico atuam como sinais extracelulares que ativam a via das lipoxigenases (Baysal & Demirdoven,

2007; Holkova et al., 2009). Nos cloroplastos, há a formação do ácido linolênico que é convertido em ácido 13-hidroperóxido-octadecatrienóico (13-HPOT), pela ação da 13-lipoxigenase. O 13-HPOT é convertido pela aleno-óxidosintase (AOS) em ciclopentanona. Esta ciclopentanona deixa o cloroplasto e se converte a oxo-pentenilciclopentano (OPC), o qual é metabolizado no peroxissomo formando o ácido jasmônico (AJ). O AJ deixa o peroxissomo e pode ser metilado no citossol para formação de metil jasmonato e estes podem ativar a transcrição de genes de IPs relacionados à defesa (Farmer & Ryan, 1992).

A resposta de defesa a herbivoria, mediante via das lipoxigenases, ocorre de maneira sistêmica, através da liberação do ácido jasmônico e de outra molécula sinalizadora, a sistemina. Após o ferimento do tecido, provocado pela alimentação do inseto ou algum dano mecânico, a sistemina é translocada via floema para partes que ainda não foram danificadas, onde ativa a cascata de sinalização para produção do AJ como mencionado anteriormente, ativando a transcrição de genes que expressam IPs de maneira sistêmica (Figura 2).



**Figura 2.** Modelo da via de sinalização que regula a expressão de genes que codificam inibidores de proteases induzidas por ferimento ou ataque herbívoro. Fonte: Adaptado de Farmer & Ryan (1992).

## *Inibidores de Proteases Vegetais*

Os IPs são amplamente distribuídos no reino vegetal. São geralmente proteínas pequenas, restritas não apenas aos tecidos de armazenamento, mas também expressas nas partes aéreas de plantas. Uma das principais formas de classificação dos IPs são as famílias e subfamílias, que consideram as sequências de seus domínios e a relação das dobras proteicas, e não o tipo catalítico de enzimas inibidas (Rawlings et al., 2004). Os principais inibidores encontrados nas plantas incluem a família Serpina; Kunitz, Bowman-Birk, Batata I, Batata II, Abóbora (curcubitácea),

Inibidores de Tripsina dos Cereais, Inibidores de Aspartil e Metalocarboxipeptidase (Habib & Fazili, 2007).

## *Serpinas*

Serpinas (inibidor de serino proteases ou família de inibidor I4) é a maior e mais difundida família de IPs. Genes de *serpina-like* têm sido identificados em vírus, bactérias, arqueas, plantas e animais (Rawlings et al., 2004; Law et al., 2006). Análises genômicas revelaram que todos os eucariotos multicelulares possuem inúmeros genes codificadores de serpinas: humanos (36 genes), *Drosophila* (13 genes), *Arabidopsis thaliana* (29 genes) e *Caenorhabditis elegans* (9 genes) (Law et al., 2006). Em plantas elas foram caracterizadas em sementes de cereais, pólen e no floema da abóbora-menina, *Cucurbita maxima*. Esta família tem alto potencial inibitório sobre serino proteases, mas também inibem caspases e cisteíno proteases, como papaína (Irving et al., 2002). As serpinas podem apresentar especificidades diferentes (Al-Khunaizi et al., 2002), como as da cevada (*Hordeum vulgae*), que conseguem inibir tripsina e quimotripsina em sítios reativos sobrepostos (Irving et al., 2002).

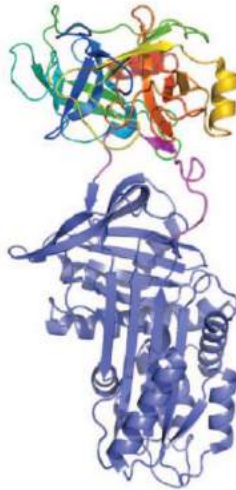
A serpinas são grandes moléculas, possuindo em torno de 330-500 aminoácidos. Aproximadamente 70 estruturas desse inibidor foram caracterizadas, e esses dados, juntamente com informações bioquímicas e biofísicas, revelaram que as serpinas

são inibidores suicidas ou de “uso único” que provocam uma mudança conformacional única e extensa para inibir proteases (Huntington et al., 2000; Law et al., 2006). São compostas por três folhas  $\beta$  (A, B e C) e 8-9  $\alpha$ -hélices (chamadas hA-hI). A figura 3 mostra a estrutura nativa do arquétipo SERPINA1. A região responsável pela interação com a protease alvo, o Loop do centro reativo (RCL), forma uma conformação estendida e exposta.

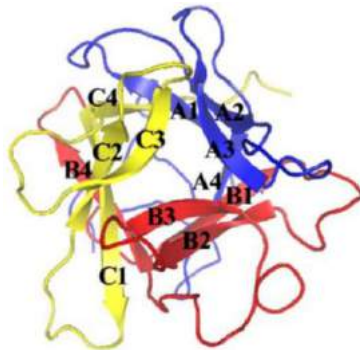
### *Inibidor tipo Kunitz*

Os membros desta família são principalmente ativos contra serino proteases como tripsina, quimotripsina e subtilisina, mas também podem inibir outras classes, incluindo as proteases aspáticas e a catepsina e Papilionoideae.

Os inibidores SKTI possuem uma dobra  $\beta$ -trefoil, composta por 12 folhas  $\beta$  dispostas em três dobras pseudo-simétricas, com a presença de hélices, em alguns casos (Figura 4). As regiões estruturais do SKTI envolvidas na interação inibidor-protease apresentam loops que conectam elementos de folhas  $\beta$  (p. ex. loop L4 entre as folhas  $\beta$  4 e 5), que podem ser altamente variáveis em sequência e comprimento (Renko et al., 2012; Guerra et al., 2016). Quase todos os SKTI possuem conformação canônica no loop de ligação do inibidor com a enzima que interage com o sítio ativo da serino protease formando um complexo enzima-inibidor, semelhante ao complexo enzima-substrato (Song & Suh, 1998; Zhou et al., 2013).



**Figura 3.** Associação entre SERPINA1 (estrutura representada na cor azul com o centro RCL em lilás) e tripsina inativa (protease representada em multicores).  
Fonte: Adaptado de Dementiev et al. (2003); Law et al. (2006).



**Figura 4.** Estrutura geral de um inibidor tipo Kunitz isolado de sementes de *Delonix regia*. A proteína possui uma dobra  $\beta$ -trefoil formada por três estruturas repetidas A (representada pela cor azul), B (representada pela cor vermelha) e C (representada pela cor amarela). Fonte: Krauchenco et al. (2003).

## *Bowman-Birk*

A família de inibidores Bowman-Birk (BBI-*Bowman-Birk inhibitor*) é a mais estudada entre os IPs. Foram relatados em leguminosas, cereais (Laing & McManus, 2002) e membros da família Fabacea, Poaceae e Solanacea (Odani et al., 1986). Os primeiros inibidores do tipo Bowman-Birk a serem identificados foram encontrados em sementes de soja, posteriormente em cana-de-açúcar, milho e girassol, sendo este último talvez, o mais potente já citado na literatura, devido à sua estrutura cíclica de 14 aminoácidos (Habib & Fazili, 2007). Os inibidores desta família são geralmente encontrados em sementes, mas também são induzidos nas folhas por danos mecânicos.

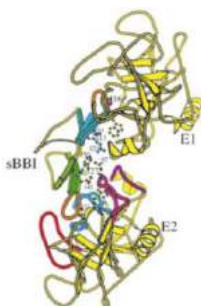
Os BBIs foram classificados com base na sua estrutura molecular. São considerados proteínas constituídas por uma estrutura assimétrica composta por dois domínios independentes, localizados em extremos opostos da molécula, um capaz de inibir tripsinas e, o outro, tripsinas, quimotripsinas e elastases (Figura 5) (Qi et al., 2005; Oliveira & Macedo, 2011). Em dicotiledôneas possuem uma única cadeia polipeptídica com a massa molecular de 8 kDa que interagem de forma independente, mas simultaneamente, com duas proteases, que podem ser iguais ou diferentes (Birk, 1985; Raj et al., 2002). Em monocotiledôneas são de dois tipos, um grupo consiste de uma única cadeia polipeptídica com uma massa molecular de cerca de 8 kDa, com um sítio

reativo. Outro grupo tem uma massa molecular de 16 kDa com dois sítios reativos (Prakash et al., 1996).

### *Inibidor da Batata*

Os inibidores da batata (tipo I e II) são sintetizados em tubérculos de batata, *Solanum tuberosum* e aumentam sua concentração à medida que a planta desenvolve. Também são induzidos por danos mecânicos ou injúria por herbivoria.

Os inibidores do tipo I da batata (Pin I) possuem uma baixa massa molecular (8 kDa), geralmente são monoméricos e em contraste com outras famílias de inibidores de protease, eles não têm ligações dissulfetos. Não são exclusivos de plantas de batata, mas encontrados em outras espécies, incluindo tomate (Margossian et al. 1988), abóbora (Murray & Christeller, 1995), cevada (Rawlings et al., 2004). Em geral, essas proteínas inibem especificamente quimotripsinas e elastases (Habib & Fazili, 2007).



**Figura 5.** Interação entre inibidor bifuncional sBBI e duas enzimas E1 e E2. Os laços de ligação à enzima são representados pela cor laranja e Lys116 e Leu143 são mostrados. As três fitas em ambos os subdomínios são representadas em azul para o subdomínio 1 (superior) e em verde para o subdomínio 2 (inferior). Fonte: Koepke et al. (2000).



O Inibidor da batata tipo II (Pin II) são restritos a plantas da família Solanaceae. Inicialmente foram caracterizados em tubérculos de batata (Christeller & Liang 2005), posteriormente foram encontrados em folhas, flores, frutas e no floema de outras espécies solanáceas (Iwasaki et al. 1971; Pearce et al. 1993). Os inibidores desta família inibem quimotripsina, tripsina, elastase, oryzina, pronase e subtilisina (Habib & Fazili, 2007).

### *Inibidor da Abóbora*

Os inibidores isolados da abóbora foram descritos em muitas cucurbitáceas (Habib & Fazili, 2007) e são ativos contra serino proteases. Os membros desta família consistem em uma única pequena cadeia peptídica de 28 - 30 aminoácidos, com massa molecular de 3,0 - 3,5 kDa (Heitz et al., 2001). O inibidor da família Curcubitaceae ou abóbora, faz parte dos mais potentes devido à sua constante de associação (Ka) que é elevada em relação aos demais.

### *Inibidores de Tripsina de Cereais*

Os membros desta família têm atividade sobre serino protease e amilase (Habib & Fazili, 2007). Inibidores de cevada (*Hordeum vulgare*), centeio (*Secale cereale*) e erva-carneira (*Festuca arundinacea*) são ativos contra a tripsina (Odani et al., 1983). Já os do milho (*Zea mays*) e de capim-pé-de-galinha

(*Elusine coracana*) mostram dupla atividade e podem inibir serino proteases e amilase (Mahoney et al., 1984).

Os inibidores de tripsina de cereais consistem numa única cadeia polipeptídica contendo cinco ligações dissulfeto, com uma massa molecular de 13 kDa (Christeller & Liang, 2005).

### *Inibidores de Aspartil e Metalocarboxipeptidase*

Os inibidores de aspartil proteases foram descritos em girassol, cevada, cardo e em tubérculos de batata (Habib & Fazili, 2007). Estes inibidores possuem 27 kDa e atuam sobre tripsina e quimotripsina, além da aspartil protease.

As plantas contêm duas famílias de inibidores de metalo proteinase, uma é a metalocarboxipeptidase isolada de batata e tomate (Graham & Ryan, 1997) e a outra é a catepsina isolada de batatas (Keilova & Tomasek, 1976). São pequenos inibidores peptídicos consistindo de 38 - 39 resíduos de aminoácidos e tem a massa molecular de cerca de 4,2 kDa (Habib & Fazili, 2007).

Os inibidores de metalocarboxipeptidase acumulam-se em tubérculos de batata durante o desenvolvimento, juntamente com as famílias de inibidor Pin I e II. O inibidor também se acumula em tecidos de folhas de batata, juntamente com inibidores de outras famílias, como resposta a danos mecânicos ou injurias de herbívoros (Ryan, 1990).

## *Cistatinas*

A superfamília dos inibidores cistatinas compreende 4 famílias que inibem a atividade das cisteíno e tiol proteases. Em plantas, ocorre a quarta família, denominado Fitocistatinas. Esta família agrupa IPs com massa molecular de 17-19 KDa e que inibem papaína e a ficina, mas não tripsina e quimotripsina. Elas apresentam diferentes padrões de expressão durante o desenvolvimento e a resposta de defesa ao estresse biótico e abiótico (Shamsi et al., 2016).

## *Estratégias do uso dos inibidores de proteases contra insetos praga*

PIs são importantes na defesa da planta e na proteção contra pragas, incluindo insetos. O papel e o mecanismo de ação da maioria desses inibidores têm sido estudados e seus respectivos genes isolados para o desenvolvimento de plantas transgênicas. No entanto, devido a alta complexidade de interação protease-inibidor e a diversidade de enzimas proteolíticas utilizadas pelo inseto alvo, a seleção do IP/ IPs apropriado(s) representa um determinante crucial para o sucesso ou o fracasso dessa estratégia (Lawrence & Koundal, 2002). Na Tabela 2 são apresentados estudos relacionados a aplicação de IPs contra insetos praga.

O desenvolvimento de plantas transgênicas que expressam IPs tem sido bastante considerado, nos últimos anos. O tamanho do gene e as regiões

codificadoras dos inibidores são geralmente pequenos e sem íntrons, o que facilita sua expressão em outra planta (Boulter, 1993). Em 1987, Hilder et al. transferiram o gene do inibidor de tripsina de *Vigna unguiculata* para o tabaco, o qual conferiu resistência a vários insetos da ordem lepidoptera como *Heliothis* e *Spodoptera*, coleóptera como *Diabrotica* e *Anthonomous* e orthoptera tal como *Locusts*. A partir daí vários estudos foram realizados com o objetivo de elucidar o efeito de IP sobre insetos praga. Abaixo são relatados alguns casos de sucesso envolvendo IPs e insetos de diferentes ordens.

### *Lepidoptera*

No estudo de Dunse e colaboradores (2010), avaliou-se o efeito da ingestão dos inibidores de batata Pin I e Pin II sobre o crescimento de *H. armigera* (Lepidoptera), um inseto altamente polífago, considerado como principal praga em diversas culturas. Sabe-se que os inibidores Pin I e Pin II atuam sobre tripsina e quimotripsina, enzimas proteolíticas cruciais para lepidópteras. O inibidor Pin II utilizado foi extraído do tabaco-ornamental *Nicotiana glauca* (NaPI) e o Pin I de batata *S. tuberosum* (StPin1A).

Para realização desse estudo, *H. armigera* neonatas foram alimentadas com dietas artificiais à base de folhas de algodão sem os inibidores (Controle) e com os inibidores StPin1A e NaPI, e registraram o peso em 5, 7, 9 e 11 dias após o início da ingestão das dietas. No 11º dia, as lagartas

alimentadas com NaPI e StPin1A separadamente, pesavam aproximadamente 50 % e 40 % menos, respectivamente, quando comparadas as lagartas do tratamento controle. Lagartas alimentadas com dietas contendo uma mistura de StPin1A e NaPI estavam com 90 % do peso menor que as lagartas do controle (Figura 6).

**Tabela 2.** Fonte vegetal, plantas transgênicas e dietas artificiais com inibidores de protease que afetaram negativamente herbívoros pragas.

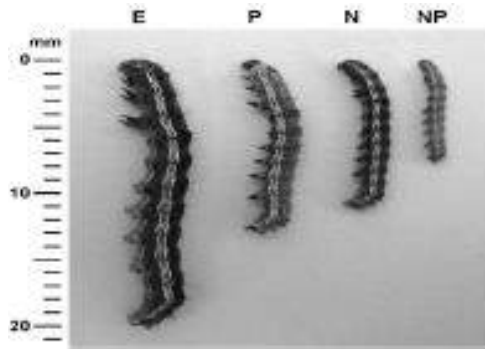
Fonte Vegetal	Inibidor de protease / enzima inibida	Praga / herbívoro alvo	Referência
<b><i>Psophocarpus Tetragonolobus</i> (Feijão-de-corda)</b>	Kunitz	<i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera)	Giri et al (2003)
<b><i>Psophocarpus Tetragonolobus</i> (Feijão-de-corda)</b>	Bowman-Birk	<i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera)	Shibata et al. (1986) Roy & Dutta (2009)
<b><i>Nicotiana tabacum</i> (Tabaco)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Helicoverpa punctigera</i> (Lepidoptera)	Pearce et al. (1993)
<b><i>Nicotiana alata</i> (Tabaco)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Helicoverpa punctigera</i> (Lepidoptera)	Dunse et al. (2010)
<b><i>Cicer arietinum</i> (Grão-de-bico)</b>	Tripsina	<i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera)	Sharma & Suresh (2011)
<b><i>Populus spp.</i> (Álamos)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Malacosoma disstria</i>	Major & Constabel (2006)
<b><i>Caesalpinia bonduc</i> (olho-de-gato)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera)	Bhattacharyya et al. (2007)
<b><i>Adenanthra pavonina</i> (olho-de-pavão)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Anthonomus grandis</i> (Coleoptera)	Franco et al. (2013)
<b><i>Tamarindus indica</i> (Tamarindo)</b>	Tripsina	<i>Callosobruchus maculatus</i> (Lepidoptera)	Prasad et al. (2010)
<b><i>Plathymenia foliolosa</i> (Amarelinho)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Anagasta kuehniella</i> (Lepidoptera)	Silveira et al. (2008)
<b><i>Plathymenia foliolosa</i> (Amarelinho)</b>	Tripsina e Quimotripsina	<i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera)	Silveira et al. (2008)

Continua...

**Tabela 2 (Continuação).** Fonte vegetal, plantas transgênicas e dietas artificiais com inibidores de protease que afetaram negativamente herbívoros pragas.

Fonte Vegetal	Inibidor de protease / enzima inibida	Praga / herbívoro alvo	Referência
<b>Planta Transgênica</b>			
<b>Tabaco</b>	Bowman-Birk	<i>Heliothis virescens</i> (Lepidoptera)	Hilder et al. (1987)
<b>Algodão</b>	Serpina	<i>Bemisia Tabaci</i> (Hemiptera)	Thomas et al. (1995)
<b>Arabidopse</b>	Inibidor de Tripsina da Mostarda tipo II	<i>Plutella xylostela</i> (Lepidoptera)	De Leo et al. (2001)
<b>Colza</b>	Inibidor de Tripsina da Mostarda tipo II	<i>P. xylostella</i> (Lepidoptera)	De Leo e at. (2001)
<b>Arroz</b>	Inibidor de Tripsina da soja	<i>Nilaparvata lugens</i> (Hemiptera)	Lee et al. (1999)
<b>Tabaco</b>	Inibidor de Tripsina da Mostarda tipo II	<i>Spodoptera littoralis</i> (Lepidoptera)	Marchetti et al. (2000)
<b>Tabaco</b>	Inibidor de protease do tomate tipo I e II	<i>Manduca sexta</i> (Lepidoptera)	Johnson et al. (1989)
<b>Tabaco</b>	Kunitz	<i>Diabrotica</i> spp. (coleoptera)	Hilder et al. (1987)
<b>Dieta artificial</b>			
-	Kunitz	<i>Manduca sexta</i> (Lepidoptera)	Shukle & Murdock, (1983)
-	Kunitz	<i>Heliothis zea</i> (Lepidoptera)	Broadway & Duffey (1986)
-	Kunitz	<i>Helicoverpa amigera</i> (Lepidoptera)	Johnston et al. (1993)
-	Kunitz	<i>Spodoptera exigua</i> (Lepidoptera)	Broadway & Duffey (1986)
-	Kunitz	<i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera)	McManus & Burgess (1995)
-	Kunitz	<i>Ostrinia nubilalis</i> (Lepidoptera)	Larocque & Houseman (1990)
-	Bowman-Birk	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Coleoptera)	Hines et al. (1990)

Fonte: Adaptado de Jongasma & Bolter (1997); Haq et al. (2004); Schlüter et al. (2010); Jamal et al. (2013).



**Figura 6.** Crescimento de *H. armigera* no 11º dia após o início da alimentação com dietas à base de folhas de algodão contendo inibidores de protease. E: tratamento controle; P: tratamento com StPin1A; N: tratamento com NaPI; NP: tratamento com mistura de StPin1A e NaPI. Fonte: Dunse et al. (2010).

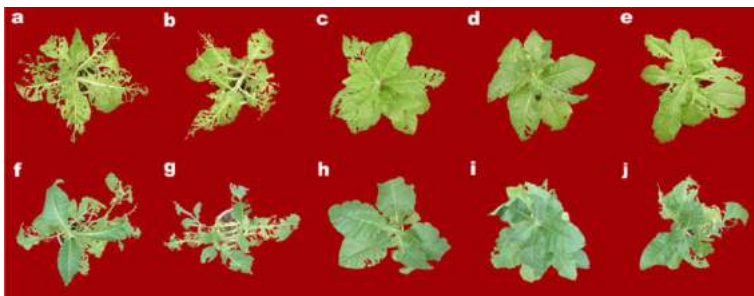
Além de demonstrar que as lagartas foram afetadas negativamente ao se alimentarem das plantas transgênicas, principalmente quando os inibidores atuaram em conjunto, este estudo demonstra uma possível estratégia para atrasar o desenvolvimento da resistência dos insetos aos transgênicos. Com a implantação e a ativação de múltiplos genes de defesa, aumenta-se a gama de respostas e mecanismos de ação em uma única planta, reduzindo a pressão e conseqüentemente a resistência.

Outro trabalho com lepidópteros realizado por Luo (2009) e seus colaboradores, avaliaram o efeito do inibidor (SaPIN2a) extraído de *Solanum americanum*, introduzindo-o geneticamente em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) através das transformações mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Lagartas *H. armigera* e *S. litura* foram alimentadas com folhas das plantas transgênicas e os efeitos de SaPIN2a no

crescimento dos insetos e no desenvolvimento de tricomas das plantas transgênicas foram avaliados.

Após sete dias, lagartas alimentadas com plantas transgênicas cresceram significativamente mais lentas quando comparadas as que se alimentaram com folhas sem inibidores (controle), com 44,3 a 71,4 % de redução de peso para *H. armigera* e 42,3 a 80,1 % para *S. litura*. A mortalidade das lagartas alimentadas com plantas transgênicas SaPIN2a foi de 36,7 a 50,0 % para *H. armigera* e 56,7 a 86,7 % para *S. litura*, enquanto que a mortalidade de lagartas alimentadas com plantas controle foi de 16,7% e 43,3%, respectivamente.

A Figura 7 mostra que as plantas controle (a, b, f, g) foram severamente danificadas por *H. armigera* e *S. litura* após sete dias de infestação, enquanto as plantas transgênicas SaPIN2a apresentaram danos visualmente menores (c, d, e, h, i, j).



**Figura 7.** Plantas de tabaco infestadas com 10 lagartas de segundo instar por sete dias. Cinco plantas com *H. armigera* (a - e) e outras cinco com *S. litura* (f - j). Dentre as plantas, as representadas pelas letras "c", "d", "e", "h", "i" e "j" possuem expressão do inibidor de protease SaPIN2a. Fonte: Luo et al. (2011).

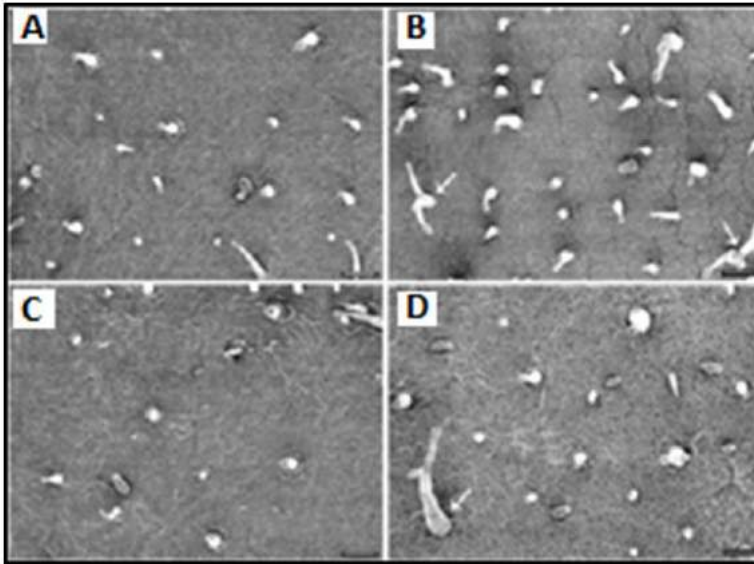


Um dos fatores relacionados a não preferência foi a maior densidade de tricomas não glandulares e glandulares desenvolvidos nas superfícies foliares adaxiais e abaxiais do tabaco transgênico. É possível observar em micrografia eletrônica de varredura (Figura 8) o número de tricomas em folhas expressando SaPIN2a (A, B) e sem a expressão de SaPIN2a (C, D).

Os resultados desses bioensaios, juntamente com os estudos preliminares em alface transgênica, fornecem evidências de que o a superexpressão do inibidor SaPIN2 confere resistência a lepidópteros e aumenta o desenvolvimento de tricomas nas folhas de tabaco.

### *Coleoptera*

As proteases aspárticas já foram encontradas em espécies de Coleoptera, tais como os carunchos-do-feijão (*Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes Subfasciatus*), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) e bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*). Considerando que as proteases aspárticas presentes em *H. hampei* são enzimas digestivas importantes em seu intestino médio, a inibição dessas fornece um mecanismo de defesa promissor para o controle desse coleoptera, considerado a principal praga do café (Molina et al., 2010).



**Figura 8.** Micrografia eletrônica de varredura da superfície foliar adaxial (A e B) e abaxial (C e D) de folhas de tabaco sem inibidor de protease (A e C) e com expressão do inibidor SaPIN2a (B e D). Barras, 100  $\mu$ m. Fonte: Luo et al. (2011).

Molina et al. (2014) exploraram o potencial do IP de *Lupinus bogotensis* (LbAPI) no controle da broca-do-café. Este estudo foi baseado no trabalho pioneiro de Molina et al. (2010) com IPs aspárticos para esta praga. Como o rendimento do inibidor aspártico (LbAPI) purificado a partir de sementes é muito baixo (Molina et al., 2010), um sistema funcional de expressão a partir da bactéria *Escherichia coli* foi projetado para obter o inibidor (rLbAPI) suficiente para avaliar seu efeito em dietas artificiais sobre o crescimento e desenvolvimento de *H. hampei*. O efeito do inibidor rLbAPI no desenvolvimento de larvas e adultos de *H. hampei* foi monitorado através da

alimentação em dieta artificial com concentrações de inibidores que variaram de 0 a 1,5 % do total de cada dieta.

Após três dias da eclosão das larvas, ocorreu uma taxa de mortalidade de 33 % para a maior dosagem testada. No décimo dia, a mortalidade variou de 57 % na concentração de 1,5 %, 33 % na dieta com 1,0 % do inibidor e apenas 1,5 % no tratamento controle. Na maior concentração do inibidor, a taxa de mortalidade aumentou para 82,5 % no 17º dia e atingiu 90 % no 23º dia. Com 1 % de rLbAPI, a mortalidade foi superior a 50 % no 15º dia e atingiu um máximo de 60 % no 23º dia. Estes resultados mostram que rLbAPI adicionado na dieta artificial foi eficaz contra *H. hampei* e produziu 50 % de mortalidade no nível de 0,91 %.

Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram relatados para outros coleópteros em outros estudos. Como exemplo citam-se o uso de 3,6 % de inibidor de tripsina de *Tamarindus indica* que provocou 50 % de mortalidade nas larvas de *Callosobruchus maculatus* (Araújo et al., 2005); o inibidor de tripsina de sementes de *Inga laurina* (ILTI), incorporado em uma dieta artificial de 0,25% que causou 100 % de mortalidade nas larvas de *Homalinotus coriaceus* (Macedo et al., 2011).

Os autores demonstraram que o inibidor LbAPI poder ser uma estratégia possível para o controle de *H. hampei*, o que despertou o interesse do Centro Nacional de Pesquisa de Café da Colômbia (Cenicafé), que está desenvolvendo trabalhos com transferência

do gene codificador de LbAPI para plantas, usando engenharia genética, a fim de avaliar o IP aspártico sobre a broca-do-café.

## *Diptera*

As principais enzimas envolvidas na digestão dos dípteros são amilases, tripsina e quimiotripsina (Mesquita-Rodrigues et al., 2011). A presença dessas enzimas ao longo do desenvolvimento dos insetos é alterada, sendo que na fase adulta, as proteínas serino são mais importantes no processo de digestão (Yang & Davies, 1971).

Gomes e colaboradores (2005) purificaram e caracterizaram um inibidor de tripsina de sementes de *Crotalaria pallida* e testaram sua atividade, *in vitro* e *in vivo*, no desenvolvimento larvário da mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata*) e guepardo-do-caupi (*Callosobruchus maculatus*), duas pragas polípagas de importância econômica em regiões tropicais e subtropicais.

Os autores testaram quatro concentrações (0,5; 1; 2 e 4 %) do inibidor de tripsina (CpaTI) que foram adicionadas em dieta artificial para criação de *C. capitata* e em farinha de semente de caupi para criação de *C. maculatus*. As enzimas de *C. maculatus* e *C. capitata* foram fortemente suscetíveis ao CpaTI na maior concentração testada nos ensaios *in vitro*, produzindo inibição de 74,4 e 100 %, respectivamente. Nos bioensaios com as pragas, o inibidor adicionado à dieta foi moderadamente efetivo contra *C. maculatus*

matando 50 % da população na concentração de 2,0 % de inibidor. Para *C. capitata*, as larvas foram mais afetadas nas concentrações menores, causando 27 % de mortalidade.

Além dos experimentos com dípteros fitófagos, há também trabalhos relacionados a pragas hematófagas como o agente transmissor do vírus da dengue *Aedes aegypti*. Sasaki et al. (2015) analisaram o efeito do IP de sementes da leguminosa *Adenanthera pavonina* sobre o mosquito-da-dengue e verificou uma redução na taxa de sobrevivência, peso e retardo no desenvolvimento destes insetos. Dessa maneira, o uso de IPs em insetos da ordem díptera demonstra potencial para o controle de pragas agrícolas, visto um futuro desenvolvimento de plantas transgênicas e também para controle de insetos vetores de doenças humanas e animais.

## *Hemiptera*

Entre os grupos de insetos que são pragas, os hemípteros alimentam-se diretamente da seiva vegetal, que possui uma concentração alta de aminoácidos livres. Neste contexto nutricional, a maioria dos IPs tem pouco efeito sobre esses insetos, visto que as estratégias baseadas em IPs visam especialmente insetos mastigadores que se alimentam de tecido vegetal e precisam de proteases digestivas para degradação de proteínas. Embora os hemípteros alimentam-se diretamente da seiva, sendo considerados imunes aos IPs devido a degradação

proteolítica digestiva ser desnecessária, trabalhos apontaram atividades de proteases em insetos sugadores como *Myzus persicae* (Rahbé et al., 2003) e *Aphis gossypii* (Deraison et al., 2004).

O efeito inseticida de IP contra várias espécies de afídeos foi relatado a tripsina-quimotripsina, inibidas por inibidores presentes em ervilha e soja (PsTI-2, SbBBI) pertencentes a família *Bowman-Birk* (Rahbé et al., 2003) e o inibidor da família Fitocistatina, orizacistatina I (OCI), isolado de sementes de arroz (Abe et al., 1987). Estes IPs atuaram negativamente sobre o afídeo, reduzindo significativamente o peso e a fecundidade de *M. persicae* (Rahbé et al., 2003).

Mesmo com a ausência de proteases digestivas alvos para os IPs nos hemípteros, há hipóteses de sua bioatividade sobre esses organismos. Uma delas é a inibição de proteases menores, porém essenciais, presentes no intestino dos insetos sugadores, outra é a existência de alvos não-enzimáticos suscetíveis aos IPs ou a inibição de proteínas que participam de uma via sistêmica (Rahbé et al., 2003). Dessa maneira, mesmo com várias lacunas a serem preenchidas sobre IPs e insetos sugadores, plantas geneticamente modificadas que os expressam podem ser uma estratégia promissora para controlar pragas da ordem hemiptera.

### *Considerações finais*

O desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a insetos cresce anualmente, devido ao seu

potencial no manejo integrado de pragas. Nesse sentido, inúmeros genes candidatos são testados, entre eles os genes codificadores de IPs. Sabe-se que proteínas inseticidas são codificadas por diversos genes e estão presentes em diferentes espécies de plantas. A disponibilidade dessa diversidade de moléculas possibilita o uso de um ou mais genes em combinação a fim de aumentar a resistência da planta ao inseto e ao mesmo tempo diminuir a chance de adaptação da praga a resposta de defesa vegetal. Além do mais, é possível desenvolver em laboratório novos tipos de IPs que tenham afinidades alteradas as diferentes proteases. O uso de IPs recombinantes pode também proteger as plantas contra fitopatógenos em geral, o que é considerado uma vantagem sobre os defensivos químicos atuais. É certo que essa tecnologia não substitui o uso de agroquímicos, mas o complementa de forma eficiente e mais sustentável.

### *Referências*

ABE, M.; KONDO, H.; ARAI, S. Purification and characterization of a rice cysteine proteinase inhibitor. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 51, p. 2763-2768, 1987.

AL-KHUNAIZI, M.; LUKE, C.J.; ASKEW, Y.S.; PAK, S.C.; ASKEW, D.J.; CATALTEPE, S.; MILLER, D.; MILLS, D.R.; TSU, C.; BRÖMME, D.; IRVING, J.A.; WHISSTOCK, J.C.; SILVERMAN, G.A. The serpin SQN-5 is a dual

mechanistic-class inhibitor of serine and cysteine proteinases. **Biochemistry**, v. 41, p. 3189-3199, 2002.

ARAÚJO, C.L.; BEZERRA, I.W.L.; OLIVEIRA, A.S.; MOURA, F.T.; MACEDO, L.L.P.; GOMES, C.E.M.; BARBOSA, A.E.A.D.; MACEDO, F.P.; SOUZA, T.N.M.S.; FRANCO, O.L.B.J.C.; SALES, M.P. In vivo bioinsecticidal activity toward *Ceratitidis capitata* (fruit fly) and *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil) and in vitro bioinsecticidal activity toward different orders of insect pests of a trypsin inhibitor purified from tamarind tree (*Tamarindus indica*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4381-4387, 2005.

BAYSAL, T.; DEMIRDOVEN, A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 5, p. 491-495, 2007.

BHATTACHARYYA, A.; RAI, S.; BABU, C.R. A trypsin and chymotrypsin inhibitor from *Caesalpinia bonduc* seeds: isolation, partial characterization and insecticidal properties. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, p. 169-177, 2007.

BIRK, Y. The Bowman-Birk inhibitor. Trypsin and chymotrypsin inhibitor from soybeans. **International Journal of Peptide and Protein Research**, v. 25, p. 113-131, 1985.

BOULTER, D. Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops. **Phytochemistry**, v. 34, p. 1453-1466, 1993.

BROADWAY, R.M.; DUFFEY, S.S. Plant proteinase inhibitors: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea*



and *Spodoptera exigua*. **Journal of Insect Physiology**, v. 32, p. 827-833, 1986.

CHIKATE, Y.R.; TAMHANE, V.A.; JOSHI, R.S.; GUPTA, V.S.; GIRI, A.P. Differential protease activity augments polyphagy in *Helicoverpa armigera*. **Insect Molecular Biology**, v. 22, n. 3, p. 258-27, 2013.

CHRISTELLER, J.; LIANG, W. Plant serine protease inhibitors. **Protein and Peptide Letters**, v. 12, p. 439-447, 2005.

DE LEO, F.; BONADE-BOTTINO, M.; CECI, L.R.; GALLERANI, R.; JOUANIN, L. Effects of a mustard trypsin inhibit expresso in different plants on three lepidopteran pests. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 31, p. 593-602, 2001.

DEMENTIEV, A.; SIMONOVIC, M.; VOLZ, K. GETTINS, P.G. Canonical inhibitor-like interactions explain reactivity of alpha1-proteinase inhibitor Pittsburgh and antithrombin with proteinases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 37881-37887, 2003.

DIAS, R.O.; VIA, A.; BRANDÃO, M.M.; TRAMONTANO, A. Digestive peptidase evolution in homometabolous insects led to a divergent group of enzymes in Lepidoptera. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 58, p. 1-11, 2015.

DUBEY, V.K.; PANDE M.; SINGH, B.K.; JAGANNADHAM, M.V. Papain-like proteases: Applications of their inhibitors. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p.1077-1086, 2007.

DUNSE, K.M.; STEVENS, J.A.; LAY, F.T.; GASPAR, Y.M.; HEATH, R.L.; ANDERSON, M.A. Coexpression of

potato type I and II proteinase inhibitors gives cotton plants protection against insect damage in the field.

**Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 107, p. 15011-15015, 2010.

ESPINOZA-FUENTES, F.P.; TERRA, W.R. Physiological adaptations for digesting bacteria. Water fluxes and distribution of digestive enzymes in *Musca domestica* larval midgut. **Insect Biochemistry**, v. 17, p. 809-817, 1987.

FARMER, E.E.; RYAN, C.A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. **Plant Cell**, v. 4, p. 129-134, 1992.

FERREIRA, C.; CAPELLA, A.N.; SITNIK, R.; TERRA, W.R. Properties of the digestive enzymes and the permeability of the peritrophic membrane of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 107, p. 631-640, 1994.

FRANCO, O.L.; SANTOS, R.C.; BATISTA, J.A.N. Effects of black-eyed pea trypsin/chymotrypsin inhibitor on proteolytic activity and on development of *Anthonomus grandis*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 343-349, 2003.

GATEHOUSE, J.A. Prospects for using proteinase inhibitors to protect transgenic plants against attack by herbivorous insects. **Current Protein and Peptide Science**, v. 12, p. 409-416, 2011.

GAZARAA, R.K.; CARDOSOB, C.; RABELOA, D.B.; FERREIRA, C.; TERRA, W.R.; VENANCIO, T.M. De novo transcriptome sequencing and comparative analysis of

midgut tissues of four non-model insects pertaining to Hemiptera, Coleoptera, Diptera and Lepidoptera. **Gene**, v. 627, p. 85-93, 2017.

GIRI, A.P.; HARSULKAR, A.M.; KU, M.S.; GUPTA, V.S.; DESHPANDE, V.V.; RANJEKAR, P.K.; FRANCESCHI, V.R. Identification of potent inhibitors of *Helicoverpa armigera* gut proteinases from winged bean seeds. **Phytochemistry**, v. 63, p. 523-532, 2003.

GOMES, C.E.; BARBOSA, A.E.; MACEDO, L.L.; PITANGA, J.C.; MOURA, F.T.; OLIVEIRA, A.S.; MOURA, R.M.; QUEIROZ, A.F.; MACEDO, F.P.; ANDRADE, L.B.; VIDAL, M.S.; SALES, M.P. Effect of trypsin inhibitor from *Crotalaria pallida* seeds on *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil) and *Ceratitis capitata* (fruit fly). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 1095-1102, 2005.

GRAHAM, J.S.; RYAN, C.A. Accumulation of metallocarboxypeptidase inhibitor in leaves of wounded potato plants. **Biochemistry and Biophysical. Research Communication**, v. 101, p. 1164-1170, 1997.

GREEN, T.R.; RYAN, C.A. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: a possible defense mechanism against insects. *Science*, v. 175 (4023), p. 776-777, 1972.

GUBB, D.; PARRA, A.S.; BARCENA, L.; TROXLER, L.; FULLAONDO, A. Protease inhibitors and proteolytic signalling cascades in insects. **Biochimie**, v. 92, p. 1749-1759, 2010.

GUERRA, Y.; VALIENTE, P.A.; PONS, T.; BERRY, C.; RUDIÑO-PIÑERA, E. Structures of a bi-functional

Kunitz-type STI family inhibitor of serine and aspartic proteases: Could the aspartic protease inhibition have evolved from a canonical serine protease-binding loop? **Journal of Structural Biology**, v. 195, p. 259-271, 2016.

HABIB, H.; FAZILI, K.M. Plant protease inhibitors: a defense strategy in plants. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 2, n. 3, p. 68-85, 2007.

HAQ, S.K.; ATIF, S.M.; KHAN, R.H. Protein proteinase inhibitor genes in combat against insects, pests, and pathogens: natural and engineered phytoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 431, p. 145-159, 2004.

HEITZ, A.; HERNANDEZ, J.F.; GAGNON, J.; HONG, T.T.; PHAM, T.T.; NGUYEN, T.M.; LE NGUYEN, D.; CHICHE, L. Solution structure of the squash trypsin inhibitor MCOTI-II. A new family for cyclic knottins. **Biochemistry**, v. 40, p. 7973-7983, 2001.

HILDER, V.A.; GATEHOUSE, A.M.R.; SHEERMAN, S.E.; BARKER, R.F.; BOULTER, D. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. **Nature**, v. 300, p. 160-163, 1987.

HINES, M.E.; NIELSEN, S.S.; SHADE, R.E.; POMERO, Y. The effect of two proteinase inhibitors, E64 and the Bowman-Birk inhibitor, on the developmental time and mortality of *Acanthoscelides obtectus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 57, n. 3, p. 201-207, 1990.

HOLKOVA, I.; BEZAKOVA, L.; VANKO, M.; BILKA, F.; OBLOZINSKY, M. Lipoxygenases and their significance in biochemical processes in plant

organisms. **Chemické Listy**, v. 103, n. 6, p. 487-495, 2009.

HUNTINGTON, J.A.; READ, R.J.; CARRELL, R.W. Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. **Nature**, v. 407, p. 923-926, 2000.

IRVING, J.A.; STEENBAKKERS, P.J.; LESK, A.M.; OP DEN CAMP, H.J.; PIKE, R.N.; WHISSTOK, J.C. Serpins in prokaryotes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, p. 1881-1890, 2002.

ISHIKAWA, A.; OHTA, S.; MATSUOKA K.; HATTORI, T.; NAKAMURA, K. A family of potato genes that encode Kunitz-type proteinase inhibitors: structural comparisons and differential expression. **Plant Cell Physiology**, v. 35, n. 2, p. 303-12, 1994.

IWASAKI, T.; KIYOHARA, T.; YOSHIKAWA, M. Purification and partial characterization of two different types of proteinase inhibitors (inhibitors II-a and II-b) from potatoes. **Journal of Biochemistry**, v. 70, p. 817-826, 1971.

JAMAL, F.; PANDEY, P.K.; SINGH, D.; KHAN, M.Y. Serine protease inhibitors in plants: nature's arsenal crafted for insect predators. **Phytochemistry Review**, v. 12, p. 1-34, 2013.

JOANITTI, G.A.; FREITAS, S.M.; SILVA, L.P. Proteinaceous protease inhibitors: structural features and multiple functional faces. **Current Enzyme Inhibition**, v. 2, p. 199-217, 2006.

JONGSMA, M.A.; BOLTER, C. The adaptation of insects to plant protease inhibitors. **Journal of Insect Physiology**, v. 43, p. 885-895, 1997.

JOHNSON, R.; NARVAEZ, J.; AN, G.; RYAN, C. A. Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants: effects on natural defense against *Manduca sexta* larvae. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 86, n. 24, p. 9871-9875, 1989.

JOHNSTON, K.A.; LEE, M.J.; GATEHOUSE, J.A.; ANSTEE, J.H. The partial purification and characterization of serine protease activity in midgut of larval *Helicoverpa armigera*. **Insect Biochemistry**, v. 21, p. 389-397, 1991.

JOHNSTON, K.A.; GATEHOUSE, J.A.; ANSTEE, J.H. Effects of soybean proteinase inhibitors on the growth and development of larval *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Physiology**, v. 39, p. 657-664, 1993.

KEILOVA, H.; TOMASEK, V. Isolation and properties of cathepsin D inhibitor from potatoes. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 41, p. 489-497, 1976.

KOEPKE, J.; ERMILER, U.; WARKENTIN, E.; WENZL, G.; FLECKER, P. Crystal structure of cancer chemopreventive Bowman-Birk inhibitor in ternary complex with bovine trypsin at 2.3 Å Resolution. Structural basis of janus-faced serine protease inhibitor specificity. **Journal of Molecular Biology**, v. 298, p. 477-491, 2000.

KRAUCHENCO, S.; PANDO, S.C.; MARANGONI, S.; POLIKARPOVA, I. Crystal structure of the Kunitz (STI)-type inhibitor from *Delonix regia* seeds. **Biochemical and Biophysical**

**Research Communications**, v. 312, p. 1303-1308, 2003.

KUWAR, S.S.; PAUCHET, Y.; VOGEL, H.; DAVID G. HECKEL, D.G. Adaptive regulation of digestive serine proteases in the larval midgut of *Helicoverpa armigera* in response to a plant protease inhibitor. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 59, p.18-29, 2015.

LAINING, W.; McMANUS, M.T. Protein-protein interactions in plants. In: McMANUS, M.T.; LAINING, W.A.; ALLAN, A.C. (Eds.). Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 77-119.

LAROCQUE, A.M.; HOUSEMAN, J.G. Effect of ingested soybean, ovomucoid and corn protease inhibitors on digestive processes of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 36, p. 691-697, 1990.

LASKOWSKI, J.M.; KATO, I. Protein inhibitor of proteinases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 49, p. 593-626, 1980.

LAW, R.H.P.; ZHANG, Q.; MCGOWAN, S.; BUCKLE, A.M.; SILVERMAN, G.A.; WONG, W.; ROSADO, C.J.; LANGENDORF, C.G.; PIKE, R.N.; BIRD, P.I.; WHISSTOCK, J.C. An overview of the serpin superfamily. **Genome Biology**, v. 7, n. 5, p. 216-223, 2006.

LAWRENCE, P.K.; KOUNDAL, K.R. Plant protease inhibitors in control of phytophagous insects. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2002.

LEE, S.I.; LEE, S.; KOO, J.C. Soybean Kunitz trypsin inhibitor (SKTI) confers resistance to the brown

planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) in transgenic rice. **Molecular Breeding**, v. 5, p. 1-9, 1999.

LÓPEZ-OTÍN, C.; BOND, J.S. Proteases: multifunctional enzymes in life and disease. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, p. 30433-30437, 2008.

LUO, M.; WANG, Z.; LI, H.; XIA, K.F.; CAI, Y.; XU, Z.F. Overexpression of a weed (*Solanum americanum*) proteinase inhibitor in transgenic tobacco results in increased glandular trichome density and enhanced resistance to *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **International Journal of Molecular Science**, v. 10, p. 1896-1910, 2009.

MACEDO, M.R.L.; SÁ, C.M.; FREIRE, M.G.M.; PARRA, J.R.P. A Kunitz-type inhibitor of coleopteran proteases, isolated from *Adenantha pavonina* L. seeds and its effect on *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 2533-2540, 2004.

MACEDO, M.L.R.; FREIRE, M.G.M. Insect digestive enzymes as a target for pest control. **Invertebrate Survival Journal**, v. 8, p. 190-198, 2011.

MACEDO, M.L.R.; OLIVEIRA, C.F.R.; COSTA, P.M.; CASTELHANO, E.C.; SILVA-FILHO, M.C. Adaptive mechanisms of insect pests against plant protease inhibitors and future prospects related to crop protection: A review. **Protein & Peptide Letters**, v. 22, p.149-163, 2015.

MAHONEY, W.C.; HERMODSON, M.A.; JONES, B.; POWERS, D.D. Amino acid sequence and secondary structural analysis of the corn inhibitor of trypsin and



activated Hageman factor. **Journal Biological Chemistry**, v. 259, p. 8412- 8416, 1984.

MAJOR, I.T.; CONSTABEL, C.P. Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound- and insect elicitor-induced gene expression. **New Phytologist**, v. 172, p. 617-635, 2006.

MARCHETTI, S.; DELLEDONNE, M.; FOGHER, C.; CHIABÁ, C.; CHIESA, F.; SAVAZZINI, F.; GIORDANO, A. Soybean Kunitz, C-II and PI-IV inhibitor genes confer different levels of insect resistance to tobacco and potato transgenic plants. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, p. 519-526, 2000.

MARGOSSIAN, L.J.; FEDERMAN, A.D.; GIOVANNONI, J.J.; FISCHER, R.L. Ethylene-regulated expression of a tomato fruit ripening gene encoding a proteinase inhibitor I with a glutamic residue at the reactive site. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 21, p. 8012-8016, 1988.

McFARLANE, J.E. Nutrition and digestive organs. In: BLUM, M.S. (Ed.). **Fundamentals of Insect Physiology**. New York: Wiley and Sons, 1985. p. 59-89.

McMANUS, M.T.; BURGESS, E.P.J. Effects of the soybean (Kunitz) trypsin inhibitor on growth and digestive proteases of larvae of *Spodoptera litura*. **Journal of Insect Physiology**, v. 41, p. 731-738, 1995.

MESQUITA-RODRIGUES, C.; SABOIA-VAHIA, L.; CUERVO, P.; LEVY, C.M.; HONORIO, N.A.; DOMONT, G.B.; DE JESUS, J.B. Expression of trypsin-like serine peptidases in pre-imaginal stages of *Aedes aegypti*

(Diptera: Culicidae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 76, p. 223-235, 2011.

MOLINA, D.; ZAMORA, H.; BLANCO-LABRA, A. An inhibitor from *Lupinus bogotensis* seeds effective against aspartic proteases from *Hypothenemus hampei*. **Phytochemistry**, v. 71, n. 8-9, p. 923-929, 2010.

MOLINA, D.; PATIÑO, L.; QUINTERO, M.; CORTES, J.; BASTOS, S. Effects of the aspartic protease inhibitor from *Lupinus bogotensis* seeds on the growth and development of *Hypothenemus hampei*: an inhibitor showing high homology with storage proteins. **Phytochemistry**, v. 98, p. 69-77, 2014.

MOREIRA, L.F.; CAMPOS, W.G.; RIBEIRO, F.R.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, M.G.A. Survival and developmental impairment induced by the trypsin inhibitor bis-benzamidine in the velvetbean caterpillar (*Anticarsia gemmatilis*). **Crop Protection**, v. 30, p. 1285-1290, 2011.

MURRAY, C.; CHRISTELLER, J.T. Purification of a trypsin inhibitor (PFTI) from pumpkin fruit phloem exudate and isolation of putative trypsin and chymotrypsin inhibitor cDNA clones. **Biological Chemistry Hoppe-Seyle Journal**, v. 376, n. 5, p. 281-287, 1995.

NEURATH, H. The diversity of proteolytic enzymes. In: BEYNON, R.J.; BOND, J.S. (Eds.). **Proteolytic enzymes - a practical approach**. Oxford: IRL Press, 1990. p. 1-13.

ODANI, S.; KOIDE, T.; ONO, T. The complete amino acid sequence of barley trypsin inhibitor.

**Journal Biological Chemistry**, v. 258, p. 7998-8003, 1983.

ODANI, S.; KOIDE, T.; ONO, T. Wheat gram trypsin inhibitor. Isolation and structural characterization of single-headed and double-headed inhibitors of the Bowman-Birk type. **Journal Biochemistry**, v. 100, n. 4, p. 975-983, 1986.

OLIVEIRA, C.F.R.; MACEDO, M.L.R. Emprego de inibidores de protease vegetais como ferramenta biotecnológica alternativa no controle de pragas. **Perspectivas Online**, v. 1, p. 1-11, 2011.

PANIZZI, A.R.; PAZZA, J.R. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. 1ª Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2009, 1164 p.

PARK, Y.; CHOI, B.H.; KWAK, J.S.; KANG, C.W.; LIM, H.T.; CHEONG, H.S.; HAHM, K.S. Kunitz-type serine protease inhibitor from potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Jopung). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 16, p. 6491-6496, 2005.

PEARCE, G.; JOHNSON, S.; RYAN, C.A. Purification and characterization from tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaves of six small, wound-inducible, proteinase isoinhibitors of the potato inhibitor ii family. **Journal of Plant Physiology**, v. 102, p. 639-644, 1993.

PERONA, J.J.; CRAIK, C.S. Structural basis of substrate specificity in the serine proteases. **Protein Science**, v. 4, n. 3, p. 337-360, 1995.

PLUNKETT, G.; SENEAR, D.F.; ZUROSKE, G.; RYAN, C.A. Proteinase inhibitors I and II from leaves of

wounded tomato plants: purification and properties. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 213, p. 463-472, 1982.

PRAKASH, B.; SELVARAJ, S.; MURTHY, M.R.N.; SREERAMA, Y.N.; RAO, D.R.; GOWDA, L.R. Analysis of the aminoacid sequences of plant Bowman Birk inhibitors. **Journal of Molecular Evolution**, v. 42, p. 560-569, 1996.

PRASAD, E.R.; GUPTA, A.D.; PADMASREE K. Purification and characterization of a Bowman-Birk proteinase inhibitor from the seeds of black gram (*Vigna mungo*). **Phytochemistry**, v. 71, p. 363-372, 2010.

PURCELL, J.P.; GREENPLATE, J.T.; SAMMONS, R.D. Examination of midgut luminal proteinase activities in six economically important insects. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 22, p. 41-47, 1992.

QI, R.F.; SONG, Z.; CHI, C. Structural features and molecular evolution of Bowman-Birk protease inhibitors and their potential application. **Acta Biochemica et Biophysica**, v. 37, n. 5, p. 283-292, 2005.

RÁBADE, N.G.; CORONA, J.A.B.; BARRADAS, J.S.A.; SALVADOR, M.D.C.O. Production of plant proteases in vivo and in vitro - A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 983-996, 2011.

RAHBÉ, Y.; FERRASON, E.; RABESONA, H.; QUILLIEN, L. Toxicity to the pea aphid *Acythosiphon pisum* of anti-chymotrypsin isoforms and fragments of Bowman-Birk protease inhibitors from pea seeds.

**Insect Biochemistry Molecular Biology**, v. 33, p. 299-306, 2003.

RAJ, S.S.; KIBUSHI, E.; KURASAWA, T.; SUZUKI, A.; YAMANE, T.; ODANI, S.; IWASAKI, Y.; ASHIDA, T. Crystal structure of bovine trypsin and wheat germ trypsin inhibitor (I-2b) complex (2:1) at 2.3 Å resolution. **Journal Biochemistry**, v. 132, p. 927-933, 2002.

RAO, M.B.; APARNA, M.T.; GHATGE, M.S.; DESHPANDE, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Review**, v. 62, p.597-635, 1998.

RAWLINGS, N.D.; TOLLE, D.P.; BARRETT, A.J. Evolutionary families of peptidase inhibitors. **Biochemical Journal**, v. 378, p. 705-716, 2004.

RENKO, M.; SABOTIC, J.; TURK, D.  $\beta$ -Trefoil inhibitors – from the work of Kunitz onward. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 1043-1054, 2012.

RITONJA, A.; KRIZAJ, I.; MESKO, P.; KOPITAR, M.; LUCOVNIK, P.; STRUKELJ, B.; PUNGERCAR, J.; BUTTLE, D.J.; BARRETT, A.J.; TURK, V. The amino acid sequence of a novel inhibitor of cathepsin D from potato. **FEBS Letters**, v. 267, p. 13-15, 1990.

ROY, S.; DUTTA, S.K. Purification of chymotrypsin-trypsin from winged bean seeds using single step immunoaffinity column. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 5, p. 142-146, 2009.

ROUDSARI, S.D.; ZIBAEI, A.; MOZHDEHI, M.R.A. Digestive proteolytic activity in larvae and adults of *Bactrocera oleae* Gmelin (Diptera: Tephritidae).

**Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, p. 483-491, 2014.

RYAN, C.A. Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 28, p. 425-449, 1990.

SASAKI, D.Y.; JACOBOWSKI, A.C.; SOUZA, A.P.; CARDOSO, M.H.; FRANCO O.L.; MACEDO, M.L.R. Effects of proteinase inhibitor from *Adenanthera pavonina* seeds on short- and long term larval development of *Aedes aegypti*. **Biochimie**, v. 112, p. 172-186, 2015.

SCHLÜTER, U.; BENCHABANE, M.; MUNGER, A.; KIGGUNDU, A.; VORSTER, J.; GOULET, M.C.; CLOUTIER, C.; MICHAUD, D. Recombinant protease inhibitors for herbivore pest control: a multitrophic perspective. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 15, p. 4169-4183, 2010.

SHAMSI, T.N.; PARVEEN, R.; FATIMA, S. Characterization, biomedical and agricultural applications of protease inhibitors: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1120-1133, 2016.

SHARMA, U.; SURESH, C.G. Purification, crystallization and X-ray characterization of a Kunitz-type trypsin inhibitor protein from the seeds of chickpea (*Cicer arietinum*). **Acta Crystallographica**, v. 67, p. 714–717, 2011.

SHIBATA, H.; HARA, S.; IKENAKA S. Purification and characterization of protease inhibitors from

winged bean *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) seeds. **Journal of Biochemistry**, v. 99, p. 1147-1155, 1986.

SHUKLE, R.H.; MURDOCK, L.L. Lipoxygenase, trypsin inhibitor, and lectin from soybeans: effects on larval growth of *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). **Environmental Entomology**, v. 12, n. 3, p. 787-791, 1983.

SILVA, C.P.; TERRA, W.R. Digestive and absorptive sites along the midgut of the cotton seed sucker *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 24, p. 493-505, 1994.

SILVEIRA, R.V.; SILVA, G.S.; FREIRE, M.G.M. Purification and characterization of a trypsin inhibitor from *Plathymenia foliolosa* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 11348-11355, 2008.

SONG, H.K.; SUH, S.W. Kunitz-type soybean trypsin inhibitor revisited: refined structure of its complex with porcine trypsin reveals an insight into the interaction between a homologous inhibitor from *Erythrina caffra* and tissue type-plasminogen activator. **Journal Molecular Biology**, v. 275, p. 347-363, 1998.

SRINIVASAN, A.; GIRI, A.P.; GUPTA, V.S. Structural and functional diversities in lepidopteran serine proteases. **Cell Molecular Biology Letter**, v.11, p. 132-154, 2006.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C.; BASTOS, F. Phylogenetic consideration of insect digestion. Disaccharidases and the spatial organization of

digestion in the *Tenebrio molitor* larvae. **Insect Biochemistry**, v. 15, p. 443-449, 1985.

THOMAS, J.C.; ADAMS, D.G.; KEPPELNE, V.D.; WASMANN, C.C.; BROWN J.K.; KANOST, M.R.; BOHNERT, H.J. Protease inhibitors of *Madhuca sexta* expressed in transgenic cotton. **Plant Cell Reports Journal**, v. 14, p. 758-762, 1995.

TREMACOLDI, C.R. **Proteases e inibidores de proteases na defesa de plantas contra pragas**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 44 p.

YANG, Y.J.; DAVIES, D.M. Trypsin and chymotrypsin during metamorphosis in *Aedes aegypti* and properties of the chymotrypsin. **Journal of Insect Physiology**, v. 17, p. 117-131, 1971.

ZHOU, D.; LOBO, Y.A.; BATISTA, I.F.C.; MARQUES-PORTO, R.; GUSTCHINA, A.; OLIVA, M.L.V.; WLODAWER, A. Crystal structures of a plant trypsin inhibitor from *Enterolobium contortisiliquum* (EcTI) and of its complex with bovine trypsin. **PLoS ONE**, v. 8, n.4 p. e62252, 2013.

ZIBAE, A.; HAJIZADEH, J. Proteolytic activity in *Plagioderia versicolora* Laicharting (Coleoptera: Chrysomelidae): Characterization of digestive proteases and effect of host plants. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 16, p. 329-334, 2013.





CAPÍTULO

6

**DEFESA QUÍMICA DE  
PLANTAS, ARTRÓPODES  
HERBÍVOROS E INIMIGOS  
NATURAIS: ESTRATÉGIAS  
PARA A SOBREVIVÊNCIA**

**Flávio Lemes Fernandes** <sup>(1)</sup>

**Flávia Maria Alves** <sup>(2)</sup>

**Eduarda Lee Ferreira Lima** <sup>(1)</sup>

**Maria Elisa de Sena Fernandes** <sup>(1)</sup>

**Walyson Silva Soares** <sup>(3)</sup>

**Salmo de Melo Davi Júnior** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Viçosa, *Campus* de Rio Paranaíba, Instituto de Ciências Agrárias, BR 354, KM310, CEP 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. Emails: flaviofernandes@ufv.br; eduarda.lima@ufv.br; mariaelisasena@yahoo.com.br; salmo.junior@ufv.br

<sup>(2)</sup> Universidade Federal de Viçosa, *Campus* de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, *Campus* Universitário, CEP 36570-900, Viçosa, MG, Brasil. Email: flaviamarialves@gmail.com

<sup>(3)</sup> Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, *Campus* Umuarama, Av. Amazonas Bloco 2E, 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil. Email: walysonagronomia@gmail.com

*Coevolução e a defesa de plantas*

Os insetos em sua maioria são herbívoros, ou seja, se alimentam de plantas, e isso traz prejuízos, principalmente se tratando de espécies de interesse agrícola. O ataque de pragas nas lavouras é responsável por reduzir cerca de 20% da produção agrícola mundial anualmente (Silva, 2016). Segundo

Franck Courchamp, diretor de pesquisa do Centro Nacional de Pesquisa Científica (CNRS), da França, (Université Paris-Sud/CNRS/AgroParisTech), os insetos em geral são capazes de consumir plantas que serviriam de alimento para 1 milhão de seres humanos, corroborando a relevância da sua presença nos agroecossistemas e a importância de se manter o maior equilíbrio possível entre as comunidades em todos os seus níveis tróficos.

Os insetos, concomitantemente à evolução das plantas, buscam meios de burlar as defesas das plantas e se tornarem cada vez mais resistentes a elas. Isso vem sendo defendido na teoria da coevolução, proposto inicialmente por Ehrlich e Raven, desde 1964. Ao longo do tempo essa teoria ganhou adaptações e novos conceitos, surgindo ramificações, tais como coevolução específica, difusa e tipo "escape ou irradiação". A coevolução específica trata de espécies que evoluem, uma respondendo à outra; a difusa de grupos de espécies que geram uma pressão seletiva sobre outros grupos e vice-versa; enquanto o escape ou irradiação está relacionada à presas que desenvolvem uma defesa contra a maioria de seus predadores. A coevolução explica o surgimento de associações mutualísticas entre plantas e insetos (Rausher, 2001; War et al., 2012).

De maneira geral, se tratando de relações onde há o predomínio de antagonismo e competição, a coevolução entre plantas e insetos serve para afeiçoar predadores mais perigosos ao passo que as estratégias de defesas se tornam mais eficazes. É

válido ressaltar, porém, que técnicas predatórias mais eficientes e defesas mais elaboradas requerem maior custo energético, por parte dos insetos e plantas, respectivamente. Os vegetais reconhecem a presença de agentes patogênicos por meio da detecção de compostos secretados por estes e que interagem, por exemplo, com constituintes da superfície celular vegetal, denominados como padrões moleculares associados ao herbívoro (PMAHs), ou através da detecção de sinais de injúria no próprio tecido vegetal, conhecidos como padrões moleculares associados à danos (PMADs). Esses padrões funcionam como elicitores que desencadeiam uma série de alterações no metabolismo celular vegetal e formam uma rede de mecanismos de defesa da planta ao ataque do patógeno, conhecidos como defesas induzidas por herbívoros (DIHs). Essas defesas variam de acordo com as espécies de plantas e herbívoros, e dependem também de outros fatores, como a quantidade de indivíduos e o hábito alimentar dos insetos (Fürstenberg-Hägg et al., 2013; Pinto-Zevallos et al., 2013).

As plantas podem se defender dos insetos tanto quimicamente quanto morfológicamente, afetando o comportamento e o metabolismo do inseto em relação à sua alimentação, reprodução e oviposição, incluindo ainda a sobrevivência. Essas defesas são denominadas constitutivas quando estão sempre presentes nas plantas, de modo contínuo, independentemente da presença ou ausência do agente causador de distúrbio, e induzidas quando são

produzidas como resposta após a detecção de um ataque, podendo ser expressas imediatamente ou não (Azevedo et al., 2003; Silva et al., 2010).

### *Compostos químicos e a defesa das plantas*

Os compostos, ou metabólitos, secundários são as principais substâncias químicas com função protetora e de defesa nas plantas, não apenas contra herbivoria, como também combatendo infecções microbianas. Durante muitos anos o papel dos compostos secundários nas plantas não era bem compreendido pelos pesquisadores e estudiosos, que inclusive chegaram a tratar essas substâncias como lixo metabólico, o qual por razão desconhecida era produzido pela própria planta, mas totalmente dispensável a ela. Diferentemente dos metabólitos primários, esses compostos são restritamente distribuídos e não se envolvem diretamente nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos vegetais, não sendo, portanto, essenciais; no entanto, sua ausência a longo prazo pode acarretar em prejuízos às plantas, afetando, por exemplo sua fecundidade e até mesmo sua sobrevivência, em condições desfavoráveis. Além da defesa contra insetos, os compostos secundários podem atuar como protetores às plantas em relação a estresses abióticos, como mudanças de temperatura, água e luz, e deficiência de nutrientes; relações de competições intraespecíficas; servindo inclusive como agentes atrativos para animais polinizadores e

dispersores de sementes. Comumente chamados de aleloquímicos, os compostos secundários atuam de forma direta, alterando a biologia e o comportamento dos insetos, através de toxicidade ao organismo, repelência (inclusive gustatória) ou deterrência, e ainda estabelecendo propriedades antinutricionais (Lara, 1991; Gilardón et al., 2001; Neiva et al., 2013).

Os metabólitos secundários são restritos a determinadas espécies ou grupos de plantas relacionadas, classificados distintamente quanto à natureza de suas estruturas e suas rotas biossintéticas (terpenoides, fenólicos e alcaloides) (Chowański et al., 2016), sendo produzidos e armazenados em órgãos ou tecidos específicos. Há variação também em suas concentrações (Lara, 1991).

A classe dos terpenoides é a maior dentre elas, havendo mais de 20 mil terpenos descritos até agora. São hidrocarbonetos formados por conjuntos de diferentes quantidades de isoprenos, que por essa razão os distinguem em monoterpenos (2), sesquiterpenos (3), diterpenos (4), triterpenos (6), tetraterpenos (8) e politerpenos (>10). Os monoterpenos e os sesquiterpenos, devido a seus baixos pesos moleculares, costumam ser voláteis e são os que mais atuam na defesa das plantas contra herbivoria. Como exemplos de substâncias envolvidas na repelência e toxicidade de insetos, e resistência de plantas a pragas dessas classes específicas, temos o limoneno, mentol, gossypol e lactona. A azadiractina, pertencente ao grupo dos limonoides, extraído principalmente de sementes de nim, é um dos

compostos inseticidas naturais mais estudados atualmente devido ao seu papel fagoderrente, causando ainda efeitos secundários após sua ingestão. A azadiractina inibe a alimentação e a postura de ovos, além de interferir no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam o crescimento, desenvolvimento e a metamorfose, impedindo o fenômeno da ecdise, essencial para a continuação do ciclo de vida de várias famílias de insetos. Já as saponinas, bastante presentes em buchas vegetais (*Luffa cylindrica*), encontradas também em aveia e tomate, são triterpenos conhecidos por interferir no desenvolvimento de insetos, chegando a causar-lhes esterilidade (Silva, 2010; Glinwood et al., 2011; Attia et al., 2012; Kask et al., 2013).

Já a classe fenólica abrange um extenso grupo com cerca de 10 mil substâncias que possuem um anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila. Os fenois são bastante presentes no nosso cotidiano, e desse grupo participam dentre outros, a lignina (tida como um importante elemento para a conquista do ambiente terrestre pelas plantas devido à rigidez que confere ao sistema vascular), isoflavonas, antocianinas, rotenoides e taninos. Os rotenoides tem ação inseticida com efeito na respiração, pois impedem a regeneração de  $\text{NAD}^+$ , diminuindo consideravelmente o consumo de  $\text{O}_2$ , levando o inseto à morte. Já os taninos são caracterizados pela adstringência ao serem consumidos e são boas ferramentas de defesa, pois se ligam a proteínas digestivas dos insetos, alterando o funcionamento do seu sistema metabólico

e reduzindo a taxa de crescimento. Os benzopiranos, ou cromenos, como também são chamados, são compostos fenólicos que induzem metamorfose antecipada em algumas espécies de artrópodes, ao danificar as glândulas secretoras dos hormônios juvenis, prejudicando o correto desenvolvimento dos mesmos. O ácido salicílico, reconhecidamente importante na defesa das plantas contra patógenos, embora seja um hormônio vegetal, tem a sua origem relacionada à via biossintética de compostos fenólicos (Glinwood et al., 2011; Fürstenberg-Hägg et al., 2013; Mitchell et al., 2016).

Os alcaloides, também chamados de substâncias nitrogenadas, são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio em seus anéis. Os alcaloides são conhecidos por terem efeito no sistema nervoso de animais e humanos. O alcaloide mais consumido mundialmente com importância agrônômica na defesa contra herbivoria é a cafeína, proveniente, como o próprio sugere, de grãos de café. A nicotina, derivada do tabaco, também é um alcaloide bastante conhecido e causa a morte do inseto por convulsão ao inibir a acetil colina esterase, responsável pela condução de sinais neurotransmissores. Os glucosinolatos, precursores dos isotiocianatos, são os compostos secundários nitrogenados típicos das hortaliças crucíferas (família Brassicaceae) que estão envolvidos na defesa de plantas. Esses compostos quando intactos não possuem toxicidade, porém se associados a enzimas específicas, as mirosinases, atuam de forma corrosiva



no organismo dos insetos herbívoros, levando-os à morte (Lara, 1991; Ahuja et al., 2010; Glinwood et al., 2011; Fürstenberg-Hägg et al., 2013; Neiva et al., 2013; Mitchell et al., 2016).

Compostos vão atrair os inimigos naturais (parasitoides ou predadores) de herbívoros para a localização das plantas com suas presas. Os inimigos naturais podem agir impedindo a alimentação e ou a oviposição. Assim, as plantas podem se defender indiretamente do ataque dos insetos emitindo uma mistura de compostos voláteis e não voláteis. Esses compostos incluem terpenos, voláteis de folhas verdes (mistura de aldeídos de seis carbonos, álcoois e ésteres), etileno, salicilato de metila e outros. Esses compostos voláteis são lipofílicos e são liberados das folhas, flores e frutos para atmosfera, ou para o solo por meio das raízes em resposta ao ataque dos insetos herbívoros (Kant et al., 2004; Glinwood et al., 2011; Fonseca et al., 2012).

A mistura de compostos voláteis de uma planta é específica para um determinado conjunto de plantas e insetos, que inclui inimigos naturais e plantas vizinhas. Esses voláteis podem induzir a expressão de genes de defesa na própria planta ou em plantas vizinhas, dessa forma aumenta a atratividade a inimigos naturais e promove defesa contra herbívoros. No entanto, as concentrações destes compostos variaram entre as espécies, evidenciando assim, que as plantas liberam sinais específicos de acordo com o inseto que está danificando o tecido (Kask et al., 2013).

Plantas de repolho atacadas pela traça das crucíferas (*Plutella xylostella*) emitem alguns voláteis de folhas verdes. Esses voláteis atraíram os parasitoides *Trichogramma chilonis* e *Cotesia plutellae*, e o predador *Chrysoperla carnea* (Ahuja et al., 2010). Plantas de tomate infestadas com *Tetranychus urticae* e *Tetranychus evansi* liberam compostos voláteis que atraem o predador *Phytoseiulus longipes*. O ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* apresenta maior preferência por voláteis de plantas de tomate infestadas com *T. urticae* (Kant et al., 2004).

A forma direta da defesa induzida é baseada em vários mecanismos de defesa como, por exemplo, a produção de metabólitos secundários tóxicos que agem reduzindo e repelindo os herbívoros. Os metabólitos produzidos pelas plantas são divididos em primários e secundários. Os metabólitos primários são utilizados para o crescimento, desenvolvimento e reprodução. Dentre as várias funções dos metabólitos secundários, proteger a planta contra herbivoria ou patógeno é uma das mais importantes. Esses metabólitos podem afetar o crescimento e o desenvolvimento dos insetos herbívoros (Tabela 1).

### *Compostos voláteis*

As plantas não possuem os sistemas nervoso e endócrino, e é notável que a maioria dos compostos secundários provoque efeitos justamente nesses sistemas nos insetos. Além da compartimentalização e acúmulo de compostos em estruturas específicas

como os vacúolos, a ausência desses sistemas nos vegetais, muito provavelmente, é também o que tem permitido a eles estocarem quantidades consideráveis de compostos secundários sem que haja prejuízo no comportamento e funcionamento dos mesmos (Lara, 1991).

Já quando se trata de defesas de plantas à artrópodes com ação indireta, as plantas produzem os chamados compostos orgânicos voláteis (COVs), também conhecidos como voláteis de plantas induzidos por herbívoros (VPIHs), que envolvem mais de 200 complexos. Esses compostos são emitidos pelos vegetais e percebidos por inimigos naturais, que a partir dessa atração química procuram os insetos pragas para predá-los ou parasitá-los (Lo Giudice et al., 2010), aliviando as plantas desses agentes, numa interação denominada tritrófica (Pinto-Zevallos et al., 2013). Caso os compostos voláteis sejam percebidos diretamente pelos próprios insetos praga, assim como agem compostos secundários, também poderão lhes causar deterrência e repelência, principalmente sobre oviposição (Lara, 1991). Esses compostos possuem baixo peso molecular e alta pressão de vapor, podendo atravessar membranas com certa facilidade, sendo liberados tanto na atmosfera quanto no solo. Em razão da natureza de volatilidade, muitos dos metabólitos secundários também podem ser classificados como compostos orgânicos voláteis (Peres, 2004; Fonseca, 2012; Riffel & Costa, 2015).

**Tabela 1.** Efeitos dos compostos químicos das plantas nos insetos.

Substância	Cultura	Espécie do Inseto	Atividade
<b>ditio de vinilo, dissulfureto de dialilo, trissulfureto de dialilo, trissulfureto de metil-alilo</b>	Alho	<i>Tetranychus urticae</i>	Aumento da mortalidade das fêmeas e redução na fecundidade
<b><math>\alpha</math>-chaconina</b>	Batata	<i>Myzus persicae</i>	Redução da fecundidade e da alimentação dos adultos, redução do peso, aumento da mortalidade de ninfas
<b><math>\alpha</math>-solanina</b>	Batata	<i>Myzus persicae</i>	Redução da fecundidade e da alimentação dos adultos, redução do peso, aumento da mortalidade de ninfas
<b><math>\delta</math>-tocoferol e <math>\beta</math>-tocoferol ou <math>\gamma</math>-tocoferol</b>	Pimenta	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Larvicida, interrupção no desenvolvimento do próximo estágio, diminuição na eficiência dos ovos eclodidos
<b>(2S,4R)-4-hydroxi-1-metil-2-pirrolidina ácido carboxílico</b> <b>4-amin-1-<math>\beta</math>-D-ribofuranosil-2(1H)-pirimidinona</b> <b>ácido 4-aminobutanóico</b> <b>7-O-<math>\beta</math>-D-apiofuranosil-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucopiranosídeo</b>	Pimenta	<i>Liriomyza trifolii</i>	Inibição da oviposição e deterrência
<b>phytol (2E)-3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol</b>	Pimenta	<i>Liriomyza trifolii</i>	Deterrência na oviposição

Continua...

**Tabela 1 (Continuação).** Efeitos dos compostos químicos das plantas nos insetos.

Substância	Cultura	Espécie do Inseto	Atividade
<b>acilaçúcares, zingibereno, 2-tridecanona</b>	Tomate	<i>Bemisia argentifolii</i>	Redução no número de ninfas, oviposição e alimentação.
<b>2-tridecanona, zingibereno</b>	Tomate	<i>Tuta absoluta</i>	Redução no número de larvas
<b>ácido clorogênico, rutina, tomatina</b>	Tomate	<i>Heliothis virescens</i> , <i>Pseudoplusia includes</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i>	Duração prolongada da muda
<b><math>\alpha</math>-tomatina</b>	Tomate	<i>Phthorimaea operculella</i>	Correlação negativa e significativa com a taxa de desenvolvimento das larvas criadas nos frutos
<b>tomatidina</b>	Tomate	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	Deterrência e aumento na mortalidade dos adultos
<b><math>\alpha</math>-chaconina</b>	Tomate	<i>Plutella xylostella</i>	Ovicida, altamente tóxico para os ovos depositados
		<i>Myzus persicae</i>	Deterrência e mortalidade
		<i>Ceratitis capitata</i>	Diminuição da sobrevivência larval, redução no peso de pupa, período de pupação prolongada e aumento do período de emergência do adulto
<b><math>\alpha</math>-tomatina</b>	Tomate	<i>Empoasca fabae</i>	Diminuição da sobrevivência das ninfas
		<i>Heliothis zea</i>	Diminuição da utilização de alimentos, inibição do crescimento de larvas

Fonte: (Adaptado de Chowański et al. 2016).

Além de outras propriedades como a atração de polinizadores e dispersores de sementes, os compostos voláteis têm sido bastante estudados e

qualificados como importantes agentes de comunicação entre plantas. Essa comunicação a nível molecular permite às plantas que troquem informações, atuando como importantes sinalizadores, por exemplo, em relação ao ataque de herbívoros ou patógenos. As plantas que recebem esses sinais terão a capacidade de preparem defesas induzidas mais eficazes, de modo prévio e mais rapidamente em contrapartida a um possível ataque subsequente, num processo conhecido como priming. Os principais compostos envolvidos nessa comunicação são os chamados voláteis de folhas verdes (VFs), derivados da via das lipoxigenases (LOX) ou rota dos octadecanoides, dos quais fazem parte álcoois, aldeídos e ésteres. Os compostos voláteis atuam também nos processos de alelopatia, no qual espécies vegetais evitam a competição de outras através da emissão de determinadas substâncias, como o caso do eucaliptol. Em estudos mais ousados, principalmente com espécies vegetais parasitas de outras, como a cuscuta, observou-se trocas de informações relacionadas até mesmo quanto ao conteúdo genético das mesmas. Quando produzidos nas raízes, atuam principalmente como antimicrobianos. Sabe-se, portanto, que os compostos orgânicos voláteis possuem grande importância frente às interações ecológicas entre planta, inseto e ambiente (Lara, 1991; Fürstenberg-Hägg et al., 2013; Riffel & Costa, 2015).

Os compostos orgânicos voláteis são específicos e variam de acordo com as espécies de plantas e

insetos, sendo que são afetados também por fatores abióticos como a umidade do solo e ar, fotoperíodo e intensidade luminosa, e até mesmo pela fertilidade do solo-planta (Lara, 1991). Todas essas características fornecem informações aos inimigos naturais não somente a respeito da presa, bem como sobre a planta e seu estado fisiológico. Os compostos orgânicos voláteis mais comuns envolvidos na defesa indireta de plantas são aqueles pertencentes às vias da lipoxigenases (ex: VFVs), do ácido chiquímico (ex: ácido salicílico e salicilato de metila) e dos terpenoides (ex: limoneno e linalol), tendo como elicitores, derivados de aminoácidos (ex: volicitina e caeliferinas) (Riffel & Costa, 2015).

Nos primeiros estudos registrados sobre voláteis de plantas induzidos por herbívoros, pesquisadores buscaram entender como um ácaro predador (*Phytoseilus persimilis*) exterminava populações de sua presa, o ácaro *Tetranychus urticae*, em plantas de pepino. Descobriu-se que o pepino emitia compostos voláteis que atraía o inimigo natural. A partir de então, reconheceu-se o uso de VPIHs como uma ferramenta potencial, passível de aplicação na agricultura (Sabelis & Van Der Meer, 1986; Sabelis et al., 1993).

A crescente preocupação global com os recursos naturais e os aspectos ambientais tem feito com que pesquisadores e agricultores, apesar de estar em processo de lenta ascensão na prática, busquem cada vez mais alternativas de controle de pragas e doenças em contrapartida ao controle químico. Os compostos orgânicos voláteis são referência no controle

biológico natural, no entanto, existem certas limitações, como a própria quantidade de voláteis que são produzidos pelas plantas, que quase sempre são insuficientes para erradicar toda uma população praga. Uma forma de tentar driblar essas barreiras é a aplicação de outros compostos que induzem as plantas a produzirem e emitirem orgânicos voláteis em maiores quantidades, como por exemplo a aplicação de metil jasmonato a algumas espécies de plantas específicas, tornando-as mais percebidas e atrativas aos inimigos naturais (Lara, 1991).

### *Defesa dos insetos a plantas*

É importante lembrar, que, como falado anteriormente, os insetos coevoluem com as plantas ao longo do tempo, buscando alternativas e mecanismos de escapar e contornar as defesas promovidas por elas. Como forma de adaptação, os insetos recebem sinais e surgem novas estratégias comportamentais e fisiológicas, que envolvem desde a fuga espacial e temporal, até a síntese de novos metabólitos, sequestro e detoxificação de substâncias, mudanças nos padrões de expressão gênica e no metabolismo e aperfeiçoamento de enzimas digestivas e inibidoras. A detoxificação, ou desintoxicação, de substâncias ocorre através da codificação de enzimas por parte dos insetos, onde atuam também citocromos, como por exemplo o citocromo P-450, que atuam sobre compostos tóxicos, tornando-os palatáveis e consumíveis (Lara, 1991). Um



exemplo da atividade enzimática, presente principalmente em Lepidopteros especialistas, como a *Plutella xylostella*, é a sulfatase glucosinolato, que desarma o complexo glucosinolato-mirosinase, impedindo sua associação e ativação do composto tóxico (Li et al., 2000).

### *Considerações finais*

As perspectivas futuras são de que, principalmente devido a todo conhecimento e aparato tecnológico de que dispomos atualmente, as relações entre plantas e insetos se tornem cada vez mais claras, e que além da capacidade de observação e constatação das mudanças no comportamento e na morfologia de ambos, seja possível explorar mais a fundo os mecanismos fisiológicos que regem essas interações. À medida que os processos se tornam mais compreendidos ao longo do tempo, a possibilidade de maior manejo e aplicação dessas ferramentas de forma adequada na agricultura moderna fica mais próxima.

### *Referências*

AHUJA, I.; ROHLOFF, J.; BONES, A. M. Defense mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 2, p. 311-348, 2010.

ATTIA, S.; GRISSA, K.L.; MAILLEUX, A.C.; LOGNAY, G.; HEUSKIN, S., MAYOUFI, S.; HANCE, T. Effective concentrations of garlic distillate (*Allium sativum*) for the control of *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 4, p. 302-312, 2012.

AZEVEDO, S.M.; FARIA, M.V.; MALUF, W.R.; OLIVEIRA, A.C.B.; FREITAS, J.A. Zingiberene-mediated resistance to the South American tomato pinworm derived from *Lycopersicon hirsutum* var. *hirsutum*. **Euphytica**, v. 134, n. 3, p. 347-351, 2003.

CHOWAŃSKI, S.; ADAMSKI, Z.; MARCINIAK, P.; ROSIŃSKI, G.; BÜYÜKGÜZEL, E.; BÜYÜKGÜZEL, K.; BUFO, S.A. A review of bioinsecticidal activity of Solanaceae alkaloids. **Toxins**, v.8, n. 3, p. E60, 2016.

FONSECA, J.D.O. **Identificação de compostos voláteis produzidos no sistema predador-presa-tomateiro**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, p. 48. 2012.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242-10297, 2013.

GILARDÓN, E.; POCOVI, M.; HERNÁNDEZ, C.; COLLAVINO, G.; OLSEN, A. Papel da 2-tridecanona e dos tricomas glandulares tipo VI na resistência do tomateiro a *Tuta absoluta*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 7, 929-933, 2001.

GLINWOOD, R.; NINKOVIC, V.; PETTERSSON, J. Chemical interaction between undamaged plants–

effects on herbivores and natural enemies. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1683-1689, 2011.

KANT, M.R.; AMENT, K.; SABELIS, M.W.; HARING, M.A.; SCHUURINK, R.C. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. **Plant Physiology**, v. 135, n. 1, p. 483-495, 2004.

KASK, K.; KÄNNASTE, A.; NIINEMETS, Ü. Emission of volatile organic compounds as a signal of plant stress. **Scientific Bulletin of ESCORENA**, v. 8, p. 79-92, 2013.

LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Editora Ícone. 1991, 337 p.

LI, Q.; EIGENBRODE S.D.; STRINGHAM, G.R.; THIAGARAJAH, M.R. Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2401 - 2419, 2000.

LO GIUDICE, D.; PERI, E.; LO BUE, M.; COLAZZA, S. Plant surfaces of vegetable crops mediate interactions between chemical footprints of true bugs and their egg parasitoids. **Communicative & Integrative Biology**, v. 3, n. 1, p. 70-74, 2010.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.14, n. 2, p. 71-81, 2002.

MITCHELL, C.; BRENNAN, R.M.; GRAHAM, J.; KARLEY, A.J. Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for

sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science**, v.7, Article 1132, 2016.

NEIVA, I.P.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.D.; MALUF, W.R.; OLIVEIRA, C.M.; MACIEL, G.M. Role of allelochemicals and trichome density in the resistance of tomato to whitefly. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, n. 1, p. 61-67, 2013.

PERES, L.E.P. 2004. **Metabolismo secundário das plantas**. 2004. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/document/315686707/Metabolismo-Secundario-Das-Plantas-Oleos-Essenciais-O-Guia-Do-Brasil>>. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

PINTO-ZEVALLOS, D.M.; MARTINS, C.B.C.; PELLEGRINO, A.C.; ZARBIN, P.H.G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395-1405, 2013.

RAUSHER, M.D. Co-evolution and plant resistance to natural enemies. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 857-864, 2001.

RIFFEL, A.; COSTA, J.G. **Os voláteis de plantas e o seu potencial para a agricultura**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2015, 48 p.

SABELIS, M.W.; VAN DER WEEL, J.J. Anemotactic responses of the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, and their role in prey finding. **Experimental & Applied Acarology**, v. 17, n. 7, p. 521- 529, 1993.

SABELIS, M.W.; VAN DER MEER, J. Local dynamics of the interaction between predatory mites and two-spotted spider mites. In: METZ, J.A.J.; DIEKMANN, O.

(Eds). **The dynamics of physiologically structured populations**. Berlin: Springer, 1986. p. 322-344.

SILVA, R. 2016. **Prejuízos causados por insetos podem aumentar 18% por causa das mudanças climáticas**. Disponível em: <<http://www.grupo cultivar.com.br/noticias/prejuizos-causados-por-insetos-podem-aumentar-18-por-causa-das-mudancas-climaticas>>. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

SILVA, V.F.; MALUF, W.R.; DAS GRAÇAS CARDOSO, M.; NETO, Á.C.G.; MACIEL, G.M.; NÍZIO, D.A.C.; SILVA, V.A. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p. 1262-1269, 2010.

WAR, A.R.; PAULRAJ, M.G.; AHMAD, T.; BUHROO, A.A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.



CAPÍTULO

7

**SUBSTÂNCIAS DE ORIGEM  
VEGETAL E SEU POTENCIAL  
PARA CONTROLAR  
FITONEMATOIDES**

**Darlan Ferreira Borges** <sup>(1)</sup>

**Everaldo Antônio Lopes** <sup>(1)</sup>

**Márcio Santos Soares** <sup>(2)</sup>

**Letícia Mendes Pinheiro** <sup>(1)</sup>

**Rafaela Eulália Almeida Albino** <sup>(1)</sup>

**Wyttallo Márcio Leonel Dias** <sup>(1)</sup>

**Fernanda Maria Inácio** <sup>(1)</sup>

**Elber Júnior Souza Borges** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mails: darlan.f.borges@ufv.br; everaldolopes@ufv.br.

<sup>(2)</sup> Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: marciosoaes@ufv.br.

*Introdução*

Os fitonematoides são animais de tamanho microscópico e que causam perdas na agricultura estimadas em US\$ 125 bilhões por ano (Sasser & Freckman, 1987; McCarter, 2009). Em 2016, apenas 55

entre 195 países tiveram o produto interno bruto (PIB) maior do que esse valor (The World Bank, 2017)! Os prejuízos causados pelos nematoides são resultantes da redução da quantidade e, ou, qualidade dos produtos agrícolas, pela ação do patógeno como vetor de viroses e por facilitar a infecção das plantas por outros fitopatógenos (Nicol et al., 2011; Lopes & Ferraz, 2016).

O uso de estratégias isoladas de controle pode não ser suficiente para reduzir populações de nematoides abaixo dos níveis de danos das culturas (Ferraz et al., 2010). Assim, combinar diferentes práticas em sistema de manejo integrado é recomendado para diminuir os prejuízos causados pelos fitonematoides. Com a crescente preocupação da sociedade com os malefícios causados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, práticas ambientalmente sustentáveis de manejo de nematoides tem ganhado espaço em substituição ao uso de nematicidas, como, por exemplo, rotação de culturas, cultivo de plantas antagonistas, aplicação de agentes de controle biológico e solarização.

Pesquisas voltadas à descoberta de métodos eficientes e ecologicamente sustentáveis de manejo de nematoides são continuamente conduzidas em centros de pesquisa em todo o mundo. Nesse contexto, a química de compostos naturais pode ser uma alternativa a ser explorada para o desenvolvimento de produtos com ação contra fitonematoides e, potencialmente, mais seguros à saúde humana e ao ambiente.



Durante o metabolismo secundário, as plantas sintetizam várias substâncias bioativas (Briemann et al., 2016). Esses compostos possuem a função de protegê-las contra o ataque de insetos e patógenos, além de inibir o crescimento de outras espécies vegetais (Briemann et al., 2006). Alcaloides, terpenos, compostos fenólicos, glucosídeos cianogênicos, poliacetilenos e ácidos graxos são exemplos de compostos químicos por plantas que possuem ação nematicida (Ferris & Zheng, 1999; Chitwood, 2002; Lopes et al., 2005; Neves et al., 2008; Taba et al., 2008; Aoudia et al., 2012; Caboni et al., 2012; Ntalli & Caboni, 2012; Oka, 2012). Várias famílias de plantas sintetizam compostos nematotóxicos, com destaque para Asteraceae, Apocynaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Liliaceae, Meliaceae, Piperaceae, Rutaceae e Simaroubaceae (Chitwood, 2002). Assim, por que não usar esses compostos na agricultura como estratégia adicional de manejo de fitonematoides?

Neste capítulo, discutiremos sobre as formas de uso de substâncias de origem vegetal no manejo de nematoides, seus possíveis mecanismos de ação, os principais grupos químicos ativos contra fitonematoides e o potencial de plantas do Cerrado de Minas Gerais como fonte de compostos nematicidas.

### *Modos de uso de produtos vegetais*

Algumas plantas liberam pelas raízes substâncias tóxicas aos nematoides, podendo então ser cultivadas em áreas infestadas. É o caso do cravo-

de-defunto (*Tagetes* spp.), pertencente à família Asteraceae. Essa planta libera no solo o tiofeno  $\alpha$ -tertienil e outros derivados, que possuem efeito repelente ou nematicida, impedindo que os nematoides penetrem nas raízes (Chitwood, 2002). De forma semelhante, o capim-chorão (*Eragrotis curvula*) e o nim (*Azadirachta indica*) também liberam no solo as substâncias inibidoras pirocatecol e nimbidina, respectivamente (Ferraz et al., 2010).

Compostos nematotóxicos pré-formados são liberados no solo durante o processo de decomposição de resíduos vegetais. Azadiractina e ricina são encontradas em tortas resultantes da extração de óleo de sementes de nim e mamona (Ferraz et al., 2010). A leguminosa mucuna-preta (*Mucuna pruriens*) é usada como adubo verde, por sua capacidade de fixar mais de  $170 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrogênio atmosférico. Ela também funciona como planta armadilha para algumas espécies de nematoides, a exemplo de *Meloidogyne incognita*. Ou seja, os nematoides penetram as raízes, mas não conseguem formar sítios de alimentação e, por isso, morrem. No entanto, outras espécies conseguem penetrar e se estabelecer no interior da planta, mas acabam sendo mortos quando a parte aérea é incorporada ao solo. Esse fato ocorre graças à presença das substâncias nematicidas L-Dopa, 1-triacontanol e triacontil tetracosanato na parte aérea da planta (Ferraz et al., 2010).

A técnica de biofumigação tem sido usada no manejo de vários patógenos de solo, plantas daninhas

e insetos. Ela explora a ação de compostos ativos voláteis formados durante o processo de decomposição de algumas plantas, principalmente espécies de *Brassica*. Mostarda, repolho, couve, brócolis são ricas em glucosinolatos. Após a incorporação dessas plantas no solo, os glucosinolatos são hidrolisados por meio da enzima mirosinase, resultando em nitrilas e, principalmente, no gás tóxico isotiocianato. Além de brássicas, os glucosinolatos também são encontrados em sementes de mamão e de abóbora e a incorporação desses materiais ao solo é eficiente em controlar nematoides de galhas (Neves et al., 2012).

Em condições experimentais, o potencial nematicida de plantas tem sido amplamente avaliado por meio da aplicação de extratos, óleos essenciais ou substâncias purificadas. Os extratos de plantas podem ser preparados usando água, etanol, hexano, metano, entre outros solventes (Akhtar & Mahmood, 1994; Chitwood, 2002; Ferraz et al., 2010; Ntalli & Caboni, 2012). Os solventes diferem na capacidade de extração de compostos potencialmente ativos (Tabela 1) e a concentração de substâncias pode variar em função do órgão vegetal usado na extração. Conseqüentemente, a ação nematicida de cada extrato depende do solvente e da parte da planta usada. Por exemplo, a atividade nematicida ou nematostática de extrato hexânico de folhas de *Tagetes minuta* sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* foi de 91%, enquanto que os extratos hexânicos e etanólicos de flores da planta suprimiram

o patógeno em 49,6 e 19%, respectivamente (Scramin et al., 1987).

**Tabela 1.** Metabólitos secundários extraídos de plantas em função do solvente.

Solvente	Metabólitos secundários
Acetato de etila, butanol	Geninas de flavonoides, cumarinas simples, terpenos e esteroides
Água acidificada	Alcaloides
Água alcalinizada	Saponinas
Etanol, metanol	Heterosídeos de forma geral
Éter de petróleo, hexano	Lípidios, ceras, pigmentos, furanocumarinas
Éter etílico, diclorometano, clorofórmio	Bases alcaloidicas livres, antraquinonas livres, terpenos, heterosídeos cardiotônicos, esteróides
Misturas hidroalcoólicas, água	Saponinas, taninos, açúcares

Fonte: Silva et al. (2005).

Óleos essenciais de algumas espécies vegetais são ricos em substâncias nematicidas, como, por exemplo, linalol, eugenol, cineol, mentol, geraniol, ascaridol, timol, carvone, citroneol (Leela et al., 1992; Oka et al., 2000; Chitwood, 2002; Ferraz et al., 2010). Oka et al. (2000) observaram que doze óleos essenciais extraídos de 25 espécies de plantas inibiram a mobilidade e a eclosão de *M. javanica*, quando aplicados na concentração de 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . A eclosão foi também inibida a concentrações de 125  $\mu\text{L L}^{-1}$  de 4 componentes: carvacrol e timol de *Origanum spp.*; trans-anethole de *Foeniculum vulgare*; (+) carvone de *Carum carvi*. Com exceção do timol, todos os demais compostos inibiram completamente a formação de galhas de *M. javanica* quando incorporados ao solo na concentração de 150  $\text{mg kg}^{-1}$  (Oka et al., 2000).

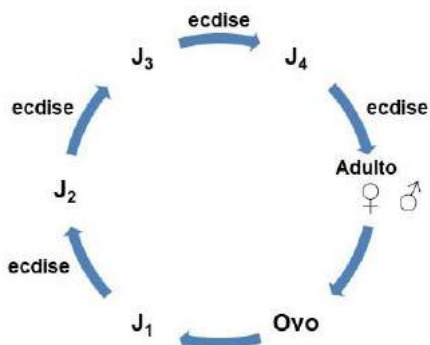
O número de pesquisas envolvendo o uso de substâncias purificadas de plantas no manejo de nematoides é menor do que as que envolvem a aplicação de extratos ou óleos essenciais de plantas. Todavia, muitas substâncias nematicidas já foram identificadas e são potencialmente passíveis de serem exploradas na agricultura, como, por exemplo, 1-triacontanol, carvone, ácido butírico, ácido oleico, alicina, alil isotiocianato,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -tertienil, ascaridol, cineol, citroneol, durrina, eugenol, geraniol, L-Dopa, linalol, linamarina, mentol, monocrotalina, ricina timol e triacontil tetracosanato (Chitwood, 2002).

Extratos, óleos essenciais e substâncias purificadas podem ser aplicados diretamente no solo, em tratamento de sementes ou pulverizados em parte aérea das plantas (Lopes et al., 2005; Ferraz et al., 2010; Moreira et al., 2013). O uso de extratos e óleos em estado bruto predomina em pesquisas em nematologia. No entanto, a aplicação de extratos e óleos essenciais em condições de campo nem sempre controla fitonematoides, contrariando eventuais resultados promissores em condições de casa de vegetação e, ou laboratório. Processos de perdas de compostos bioativos por degradação e volatilização são os principais fatores que reduzem a eficiência da aplicação de extratos e óleos essenciais em campo (Betz et al., 2012; Jia et al., 2016). Consequentemente, o potencial de determinado material vegetal para uso na agricultura acaba sendo subestimado em razão não preocupação dos cientistas em reduzir as perdas dos

compostos ativos. Formulações preparadas a partir de produtos vegetais podem reduzir as perdas de substâncias e, possivelmente, aumentar a eficiência no controle de nematoides. Alguns produtos comerciais à base de extratos ou óleos essenciais estão disponíveis no mercado mundial para o manejo de nematoides à base de extratos de *Quillaja saponaria*, óleos essenciais de nim, gergelim, alecrim, para citar apenas alguns. Isso demonstra que a química dos produtos naturais pode oferecer soluções eficientes e ecologicamente seguros para reduzir os prejuízos causados pelos nematoides.

### *Mecanismos de ação de produtos de origem vegetal sobre fitonematoídes*

Os mecanismos nos quais os produtos vegetais agem contra fitonematoídes são variados (D'Addabbo et al., 2014). Diferentes etapas do ciclo do patógeno podem ser afetadas pela ação das substâncias de origem vegetal, embora os principais alvos são os ovos e os juvenis de segundo estágio (Figura 1). Em muitos casos, vários estágios dos nematoides podem ser prejudicados de forma concomitante por uma mesma substância ou conjunto de compostos em extratos ou óleos essenciais.



**Figura 1.** Ciclo de vida geral dos fitonematoides.

Algumas substâncias inibem a eclosão de ovos. É o caso do carvacrol, timol, trans-anetol, carvona (Oka et al., 2000) e da alicina (Gupta & Sharma, 1993). Outros possuem ação contra juvenis. Eles podem ser tóxicos aos nematoides, causando morte (efeito nematicida) ou paralisia temporária (efeito nematostático). A monocrotalina, isolada de *Crotalaria spectabilis*, inibe o movimento de juvenis de *M. incognita* na concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Fassuliotis & Skucas, 1969), enquanto que o linalol, geraniol e citronelol possuem ação nematicida contra juvenis do mesmo nematoide (Leela et al., 1992). A capacidade de localização das raízes e a atração do nematoide por determinado hospedeiro também podem ser inibidas por várias substâncias encontradas em plantas. O absinto ou losna (*Artemisia absinthium*) produz o sesquiterpeno absintina, que atua como desestimulante de apetite de insetos e nematoides (Guesmi et al., 2013). A aplicação de concavalina A, uma lectina isolada de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), controla *M. incognita* em tomateiro,

possivelmente por bloquear a capacidade do nematoide em encontrar as raízes (Marban-Mendoza et al., 1987).

Por fim, a aplicação de compostos vegetais na parte aérea das plantas pode induzir resistência a diferentes estádios dos nematoides. Nem todas as substâncias possuem ação elicitora. Por isso, a aplicação da parte aérea das plantas é a forma menos estudada no manejo de nematoides. No entanto, essa abordagem possui a vantagem de ter a planta como alvo direto e não os nematoides, que estão protegidos no solo ou nas raízes. O furostanol, extraído de *Dioscorea deltoidea*, é um exemplo de substância que induz resistência a fitonematoides quando aplicado na parte aérea de plantas, assim como é provável que esse também seja o mecanismo de ação do 2,5-dihidroxi metil-3,4-dihidroxipirrolina (DMDP) e do eugenol, quando aplicados da mesma forma (Birch et al., 1993; Moreira et al., 2013).

### *Principais grupos químicos com ação nematicida e suas fontes naturais*

#### *Ácidos orgânicos*

Os ácidos 11-oxo triterpênico, butírico, camárico, lantanólico, lantóico, oleanólico, oleico, pomólico, ursólico e o aminoácido não essencial L-Dopa possuem ação nematicida (Barbosa et al., 1999; Ntalli & Caboni, 2012). No camará ou camará (*Lantana camara* var. *aculeata*) podem ser



encontrados os ácidos 11-oxo triterpênico, camárico, lantanólico, lantóico, oleanólico, oleico e pomólico, que possuem ação nematotóxica superior a 80% (Qamar et al., 2005; Begum et al., 2008). Sementes de mucuna-preta (*Mucuna pruriens*) possuem 6 a 9% de L-Dopa, um composto que é tóxico a *M. incognita* e ao nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Barbosa et al., 1999).

### *Alcaloides*

Várias plantas sintetizam alcaloides durante o seu metabolismo secundário. Os compostos monocrotalina e DMDP, mencionados anteriormente, são alcaloides. Experimentos em laboratório comprovaram que o alcaloide 1,2-dihidropirrolizidina, isolado de raízes de *Chromolaena odorata*, possui ação nematicida em concentrações de 70 a 350 mg L<sup>-1</sup> (Thoden et al., 2010). O nematoide causador da murcha do pínus, *Bursaphelenchus xylophilus*, é sensível à ação dos compostos matrina, citisina e aloperina, isoladas de *Sophora alopecuroides* (Zhao, 1999). Extratos de plantas ricas em alcaloides podem ser tão eficientes em controlar nematoides quanto nematicidas comerciais. El Allagui et al. (2007) relataram que a supressão do nematoide de galhas com a aplicação de extratos aquosos de arruda-Síria (*Peganum harmala*) foi similar ao uso do nematicida oxamil (Vydate®). A análise fitoquímica da planta revelou alta concentração de alcaloides. Raízes de vinca-de-Madagascar (*Catharanthus roseus*) são ricas

no alcaloide pentacíclico serpentina, que inibe eclosão e é tóxico a juvenis de *M. incognita* (Chandravadana et al., 1994).

### *Aldeídos e cetonas*

Aldeídos e cetonas estão entre os principais compostos bioativos do cinamomo ou árvore-de-Santa-Bárbara (*Melia azedarach*) e de espécies de eucalipto (*Eucalyptus* spp). (Carpinella et al., 2003; Ntalli et al., 2010a; Cavoski et al., 2012). A incorporação de frutos triturados de cinamomo nas concentrações de 30 e 60 g kg<sup>-1</sup> de solo controla *M. incognita* em pepino em níveis comparáveis ao nematicida fenamifós (Cavoski et al., 2012). O aldeído aromático benzaldeído tem forte ação nematicida (EC<sub>50</sub> = 9 µg mL<sup>-1</sup>) e é encontrado no óleo essencial de *Eucalyptus melliodora* (Ntalli et al., 2010a). Outros aldeídos e acetonas com potencial para o controle de nematoide são o trans-cinamaldeído e o furfural. Em experimentos em microparcelas, a aplicação de benzaldeído e furfural em doses variando de 0,18 a 2,14 mL kg<sup>-1</sup> de solo controlaram *M. incognita* em algodoeiro (Bauske et al., 1994).

### *Fenois, flavonoides e taninos*

Os compostos fenólicos atuam no sistema de defesa das plantas contra insetos, fungos, bactérias, vírus e nematoides (D'Addabbo et al., 2014). Esses compostos podem induzir resistência em plantas, mas

também ter efeito direto contra nematoides (Mahajan et al., 1992). O papel do ácido salicílico no combate aos nematoides é um clássico exemplo da multiplicidade de ação dos compostos fenólicos. Conhecido por ser mediador de resistência em plantas, o ácido salicílico também é tóxico a *M. incognita* na concentração de  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Maheshwari & Anmwar, 1990). Extratos vegetais ricos em compostos fenólicos geralmente inibem ou matam fitonematoides (Midiwo et al., 2002; El Allagui et al., 2007; Muhammad et al., 2011). Alguns compostos fenólicos já foram isolados e tiveram comprovada ação contra nematoides. Dentre eles: pirocatecol (isolado de *Eragrostis curvula*); metil 4-hidroxibenzoato e metil 4-hidroxicinamato (isolado de *Allium grayi*); (i)-nortraquelogenina, (C)-pinoresinol, metil ferulato, monometileter-pirosilvina (isoladas de *Pinus* spp.); coumestrol e psoralidina (isolados de *Phaseolus lunatus*); gliceolina (fitoalexina isolada de raízes de *Glycine max*); medicarpina (isolada de *Medicago sativa*); magnolol, honoquiol (isolados de *Magnolia tripetala*) (Rich et al., 1977; Kaplan et al., 1980; Tada et al., 1988; Suga et al., 1993; Kanagy & Kava, 1996; Li et al., 2009), além de ácido tânico, floroglucinol, hidroquinona, orcinol, pirogalol e quercetina, encontrados em várias espécies de plantas (Mian-Rodríguez-Kábana, 1982; Osman & Viglierchio, 1988; Mahmood & Siddiqui, 1993; Maistrello et al., 2010).

## *Glucosinolatos*

São produzidos no metabolismo secundário, principalmente em plantas das famílias Brassicaceae e Capparaceae. Os glucosinolatos ajudam na proteção das plantas ao ataque de pragas e patógenos. Esses compostos são armazenados em vacúolos de células vegetais, mantidos isolados da enzima mirosinase. No entanto, quando os tecidos vegetais são rompidos, os glucosinolatos entram em contato com a mirosinase e são hidrolisados, resultando em produtos voláteis tóxicos, especialmente os isotiocianatos (Brown & Morra, 1997; Ferraz et al., 2010).

A incorporação de resíduos de brássicas em solo úmido com posterior cobertura do solo com plástico transparente para o controle de patógenos, pragas e plantas daninhas é conhecida como biofumigação (Brown & Morra, 1997). O solo deve estar úmido para ocorrer hidrólise e intensa atividade microbiana e o plástico transparente potencializa o controle, devido ao efeito complementar do aumento da temperatura do solo e aceleração da degradação dos materiais orgânicos, além de evitar a perda dos compostos voláteis tóxicos (Ferraz et al., 2010). Compactar as camadas superiores do solo após a incorporação dos resíduos pode substituir a cobertura com plástico.

A literatura sobre o efeito da biofumigação com brássicas no manejo de patógenos, incluindo fitonematoides, é extensa (Gamliel et al., 2000; Ferraz

et al., 2010; Avato et al., 2013). Além das brássicas, os glucosinolatos também são encontrados em sementes de mamão e a incorporação ao solo desses resíduos controla o nematoide das galhas (Neves et al., 2012).

Com a retirada do fumigante brometo de metila do mercado, a busca por substitutos cresceu em todo o mundo e, em alguns casos, alguns produtos foram formulados a partir de isotiocianatos extraídos de sementes de mostarda, como, por exemplo, o Dazitol<sup>®</sup>. Além disso, melhoramento genético de mostarda (*Brassica juncea*), canola (*Brassica napus*), mostarda-branca (*Sinapsis alba*) e limnanto (*Limnanthes alba*) tem sido direcionado para obtenção de materiais com elevadas concentrações de glucosinolatos para uso em biofumigação.

Os principais produtos nematotóxicos resultantes da decomposição dos glucosinatos são alil isotiocianato (ITC), acrilóil ITC, etil ITC, benzil ITC, 1-feniletil ITC, 2-feniletil ITC e 3-metoxibenzil ITC (Wu et al., 2011; Zasada et al., 2012). Em condições de campo, a aplicação de alil ITC ou acrilóil ITC na dose de 1 kg ha<sup>-1</sup> teve o mesmo efeito no controle de *M. javanica* em pepino do que o metam sódio (Wu et al., 2011), nematicida fumigante amplamente usado em todo o mundo após o banimento do brometo de metila.

### *Limonoides*

São comumente encontrados em espécies das famílias Rutaceae e Meliaceae. Aproximadamente 300 limonoides são conhecidos e, dentre eles, em torno de

cem desses compostos são encontrados em nim (*Azadirachta indica*) e, ou cinamomo (*Melia azedarach*). A azadiractina, extraída de nim, é um dos compostos vegetais mais estudados no controle de pragas e patógenos. Em todo o mundo, vários produtos comerciais estão disponíveis para uso agrícola à base dessa substância. Os mecanismos de ação da azadiractina envolvem toxicidade direta e inibição de eclosão (Akhtar, 2000).

O nim e o cinamomo possuem dezenas de limonoides e outros compostos ativos, o que explica o efeito de extratos, óleos e resíduos dessas plantas contra diferentes organismos, incluindo nematoides, fungos, bactérias, insetos e ácaros (Akhtar, 2000; Lopes et al., 2008; Ntalli et al., 2010b). Em experimentos com nematoide das galhas, por exemplo, a incorporação ao solo de torta de nim na dose de 20 g kg<sup>-1</sup> de solo resultou em controle superior a 80% (Lopes et al., 2008) e a incorporação de pó de frutos de cinamomo atuou como potente fumigante (EC<sub>50</sub> = 0,34%, p:p) (Ntalli et al., 2010b).

### *Saponinas*

Além de suas notórias propriedades surfactantes, as saponinas também podem agir como nematicida (Majak, 1992; Sparg et al., 2004; San Martín & Magunacelaya, 2005; Tava & Avato, 2006; Ibrahim et al., 2013). Nesse caso, o mecanismo de ação está relacionado com o rompimento de membranas celulares (San Martín & Magunacelaya, 2005). Devido

à eficiência de saponinas de *Quillaja saponaria* no controle de nematoides (San Martín & Magunacelaya, 2005; Giannakou, 2011), um nematicida comercial (QL-Agri 35<sup>®</sup>, Basf) foi formulado à base de extratos da planta e pode ser encontrado no Chile.

A alfafa (*Medicago sativa*) é rica em saponinas, especialmente glicosídeos (triterpenos) de ácido medicagênico. Saponinas de alfafa possuem ação nematicida contra *M. incognita*, *Xiphinema index* e *Globodera rostochiensis* (D'Addabbo et al., 2011). Farelo de alfafa peletizado, incorporado ao solo nas doses de 20 e 40 t ha<sup>-1</sup>, aumenta a produção de tomateiro e reduz a densidade populacional de *M. incognita* (Leonetti et al., 2011).

Outras plantas que produzem saponinas com comprovada ação nematicida são *Acacia auriculiformis* (Roy et al., 1993), *Acacia concinna*, *Albizia chinensis*, *Asparagus adscendens* (Meher et al., 1988), *Aster sedifolius*, *A. caucasicus* (Di Vito et al., 2010), *Bacopa monniera* (Renukappa et al., 1999), *Cestrum parqui* (Ikbali et al., 2007), *Dioscorea deltoidea* (Zinovieva et al., 1997), *Madhuca indica* (Saha et al., 2010), *Morinda lucida* (Olabiya et al., 2008), *Sapindus mukorossi* (Saha et al., 2010) e *Tithonia diversifolia* (Odeyemi & Adewale, 2011).

## Terpenos

Os terpenos ou terpenoides são encontrados em todo o reino vegetal e desempenham diversos papéis na fisiologia das plantas. São formados por

agrupamentos de diferentes números de unidades de isopreno (composto por cinco moléculas de carbono, C<sub>5</sub>), podendo ou não conter oxigênio (Ntalli et al., 2012). As principais classes de terpenoides são os monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), hemiterpenos (C<sub>5</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), quassinoides (C<sub>18</sub>-C<sub>25</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>) (Ntalli & Caboni, 2012).

Óleos essenciais de plantas são ricos em terpenos nematotóxicos (Malik et al., 1987; Sangwan et al., 1990; Oka et al., 2000; Chitwood, 2002). Carvacrol, citral, citronelol, eucaliptol (1,8-cineol), eugenol, geraniol, limoneno, mentol e timol estão entre as substâncias nematicidas encontradas nos óleos essenciais de plantas das famílias Apiaceae, Geraniaceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Poaceae (Oka et al., 2000; Chitwood, 2002; Echeverrigaray et al., 2010; Ntalli & Caboni, 2012). O estudo de óleos essenciais de 25 espécies de plantas revelou que 12 óleos inibiam a eclosão e a motilidade de *M. javanica* na concentração de 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$  (Oka et al., 2000). A eclosão foi inibida por carvacrol e timol, extraídos de orégano (*Origanum* spp.), trans-anetol de erva-doce (*Foeniculum vulgare*), (C)-carvone de alcarávia (*Carum carvi*) na concentração de 125  $\mu\text{L L}^{-1}$ . A formação de galhas do nematoide foi completamente inibida após incorporação ao solo de carvacrol, trans-anetol e (C)-carvone na dose de 150 mg kg<sup>-1</sup> de solo (Oka et al., 2000).

Sesquiterpenoides com ação nematicida, nematostática ou repelente foram identificados em



algumas espécies vegetais, incluindo a alantolactona de *Inula helenium*, rishitina de tubérculos de *Solanum tuberosum* e  $\alpha$ -humuleno, isolado de *Pinus massoniana* (Zinovieva & Chalova, 1987; Mahajan et al., 1986; Suga et al., 1993). Substâncias pertencentes a outras classes de terpenoides possuem potencial para uso no controle de nematoides, a exemplo dos diterpenoides odoracina e ocoratrina (Munakata, 1983); além dos quassinoides chaparrinona, klaineanona e glaucarubolona (Prot & Kornprobst, 1983).

### *Potencial nematicida de plantas do Cerrado*

Mais de 12 mil espécies de plantas são encontradas no bioma que predomina na região do Alto Paranaíba – o Cerrado (Ribeiro & Walter, 1998; Mendonça et al., 2008). Várias substâncias com potencial nematicida podem ser encontradas nesse bioma, em razão da diversidade de espécies vegetais e da necessidade das plantas produzirem inúmeros metabólitos secundários por estarem expostas a estresses bióticos e abióticos. Com base nessa hipótese, nossa equipe avaliou o potencial nematicida de extratos de árvores encontradas em áreas de Cerrado em Rio Paranaíba (Borges, 2017).

Em laboratório, extratos aquosos de árvore-de-sabão (*Enterolobium gummiferum*), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), mangabeira (*Hancornia speciosa*), pau-pombo (*Tapirira guianensis*), pau-de-óleo (*Copaifera langsdroff*), candeia (*Eremanthus*

*erythropappus*), jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*) e faveira (*Dimorphandra mollis*) foram nematotóxicos a *M. javanica*. Em casa de vegetação, a aplicação ao solo de extratos de frutos de árvore-de-sabão, folhas de pau-de-óleo, folhas de candeia e da mistura de extratos de folhas de pau-de-óleo e jatobá-do-cerrado reduziu o número de galhas, enquanto que a mistura de extratos de frutos de barbatimão e folhas de candeia reduziu o número de ovos de *M. javanica* em raízes de alface.

A alta concentração de compostos fenólicos e flavonoides possivelmente foi um dos motivos que explicou a ação dos extratos de pau-pombo, pau-de-óleo e frutos de barbatimão (Borges, 2017). No entanto, outros compostos nematotóxicos podem estar envolvidos na supressão em plantas que tiveram menores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides, a exemplo de árvore-de-sabão, candeia e jatobá-do-cerrado. Nesse caso, possivelmente saponinas e terpenos podem ter sido responsáveis pela atividade nematicida desses materiais.

Em estudos futuros, serão estudados os mecanismos e a identidade das substâncias nematicidas das plantas selecionadas. Além disso, avaliaremos formulações contendo substâncias purificadas e, ou extratos brutos em condições de campo, buscando o desenvolvimento de nematicidas de origem vegetal.

### *Considerações finais*

O manejo de fitonematoides pode ser feito por meio da aplicação dos extratos ou óleos essenciais pelos agricultores, principalmente em pequenas áreas e, ou, em cultivos orgânicos. No entanto, a quantidade de material vegetal requerida e o tamanho da área a ser tratada podem limitar o uso dessa abordagem (Ferraz et al., 2010). Além disso, a produção dos compostos ativos das plantas pode ser afetada pelas condições ambientais e os compostos orgânicos presentes nas soluções podem ser instáveis ou degradarem rapidamente no solo, exigindo várias aplicações (Silva et al., 2005).

Em contrapartida, produtos de origem vegetal podem ser preparados pela indústria e serem disponibilizados para uso em larga escala. Nematicidas à base de óleos essenciais, substâncias vegetais ou extratos estão disponíveis em vários países do mundo, embora seja um mercado com enorme potencial e ainda pouco explorado, em função da diversidade de moléculas nematotóxicas já relatadas e a crescente demanda por produtos ambientalmente mais seguros. Moléculas sintéticas análogas aos compostos vegetais também podem ser produzidas pela indústria e resultar em novos produtos, tal qual ocorreu com a síntese dos piretroides a partir de piretrinas isoladas de flores de espécies de *Chrysanthemum*.

A busca por substâncias nematicidas nos centros de pesquisa deve considerar o desenvolvimento de formulações, ainda que mais rudimentares, para avaliação do real potencial dos compostos vegetais. É muito comum notar que resultados promissores obtidos em condições controladas de laboratório e casa de vegetação não sejam observados em condições de campo. Processos de perdas dos compostos ativos dos extratos ou óleos essenciais são os principais responsáveis dessa frustrante situação. Formulações de liberação controlada são opções interessantes para uso no manejo de patógenos de solo, a exemplo dos nematoides. Com o avanço da nanotecnologia, várias opções de preparo de formulações de liberação controlada são possíveis, somadas aos métodos tradicionais envolvendo polímeros biodegradáveis.

Por fim, os produtos vegetais dificilmente erradicarão fitonematoides em áreas infestadas (como todas as demais estratégias) e a sua eficiência na redução de nematoides em alta densidade no campo pode ser limitada. Esses produtos devem ser parte de sistemas integrados de manejo, associados com métodos físicos, culturais, biológicos ou mesmo químicos de controle.

### *Agradecimentos*

Darlan Borges agradece à FAPEMIG e CAPES pela bolsa de Mestrado. Everaldo Lopes agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa

(Processo 304663/2014-0) e pelo apoio financeiro ao projeto "Potencial nematocida de extratos de plantas do Cerrado Mineiro" (Processo 474456/2013-7).

## Referências

AKHTAR, M. Nematicidal potential of the neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss). **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, n. 1, p. 57-66, 2000.

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Potentiality of phytochemicals in nematode control: a review. **Bioresource Technology**, v. 48, p. 189-201, 1994.

AOUDIA, H.; NTALLI, N.; AISSANI, N.; YAHIAOUI-ZAIDI, R.; CABONI, P. Nematotoxic phenolic compounds from *Melia azedarach* against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 47, p. 11675-11680, 2012.

AVATO, P.; D'ADDABBO, T.; LEONETTI, P.; ARGENTIERI, M.P. Nematicidal potential of Brassicaceae. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 791-802, 2013.

BARBOSA, L.C.; BARCELOS, F.F.; DEMUNER, A.J.; SANTOS, M.A. Investigation-Research: Chemical Constituents from *Mucuna aterrima* with activity against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica**, v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.

BAUSKE, E.M.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; ESTAÚN, V.; KLOEPPER, J.W.; ROBERTSON, D.G.; WEAVER, C.F.; KING, P.S. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. **Nematropica**, v. 24, p. 143-150, 1994.

BEGUM, S.; ZEHRA, S.Q.; SIDDIQUI, B.S.; FAYYAZ, S.; RAMZAN, M. Pentacyclic triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara* and their nematicidal activity. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 9, p. 1856-1866, 2008.

BIRCH, A.N.E.; ROBERTSON, W.M.; GEOGHEGAN, I.E.; MCGAVIN, W.J.; ALPHEY, T.J.W.; PHILLIPS, M.S.; FELLOWS, L.E.; WATSON, A.A.; SIMMONDS, M.S.J.; POTTER, E.A. DMDP- a plant-derived sugar analogue with systemic activity against plant parasitic nematodes. **Nematologica**, v. 39, p. 521-535, 1993.

BORGES, D.F. **Efeito nematicida de extratos de plantas do Cerrado e óleos essenciais.** Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa *Campus* Rio Paranaíba, Rio Paranaíba/MG, p. 37. 2017.

BRIELMANN, H.L.; SETZER, W.N.; KAUFMAN, P.B.; KIRAKOSYAN, A.; CSEKE, L.J. **Phytochemicals: The chemical components of plants.** In: CSEKE, L.J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B.; WARBER, S.; DUKE, J.A.; BRIELMANN, H.L. Natural products from plants. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. p. 19-26.

BROWN, P.D.; MORRA, M.J. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. In: SPARKS, D.L. (Ed). **Advances in Agronomy.** San Diego: Academic Press, 1997. p. 167-215.

CABONI, P.; SARAIS, G.; AISSANI, N.; TOCCO, G.; SASANELLI, N.; LIORI, B.; CARTA, A.; ANGIONI, A. Nematicidal activity of 2-thiophenecarboxaldehyde

and methylisothiocyanate from caper (*Capparis spinosa*) against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7345-7351, 2012.

CARPINELLA, M.C.; GIORDA, L.M.; FERRAYOLI, C.G.; PALACIOS, S.M. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2506-2511, 2003.

CAVOSKI, I.; CHAMI, Z.AL.; BOUZEBBOUDIA, F.; SASANELLI, N.; SIMEONE, V.; MONDELLI, D.; MINAO, T.; SARAI, G.; NTALLI, N.G.; CABONI, P. *Melia azedarach* controls *Meloidogyne incognita* and triggers plant defense mechanisms on cucumber. **Crop Protection**, v. 35, p. 85-90, 2012.

CHANDRAVADANA, M.V.; NIDIRY, E.S.J.; KHAN, R.M.; RAO, M.S. Nematicidal activity of serpentine against *Meloidogyne incognita*. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 17, p. 185-192, 1994.

CHITWOOD, D.J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-49, 2002.

D'ADDABBO, T.; LAQUALE, S.; LOVELLI, S.; CANDIDO, V.; AVATO, P. Biocide plants as a sustainable tool for the control of pests and pathogens in vegetable cropping systems. **Italian Journal of Agronomy**, v. 9, n. 4, p. 137-145, 2014.

D'ADDABBO, T.; CARBONARA, T.; LEONETTI, P.; RADICCI, V.; TAVA, A.; AVATO, P. Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass

from *Medicago sativa*. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 503–519, 2011.

DI VITO, M.; CATALANO, F.; PECCHIA, P.; CAMMARERI, M.; CONICELLA, C. Effects of meal and saponins of *Aster caucasicus* and of *A. sedifolius* on the control of nematodes. **Acta Horticulturae**, v. 883, p. 361–368, 2010.

ECHVERRIGARAY, S.; ZACARIA, J.; BELTRÃO, R. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 100, n. 2, p. 199–203, 2010.

EL ALLAGUI, N.; TAHROUCH, S.; BOURIJATE, M.; HATIMI, A. Action of plant extracts on root-knot nematods (*Meloidogyne* asp.) mortality. **Acta Botanica Gallica**, v. 154, p. 503–509, 2007.

FASSULIOTIS, G.; SKUCAS, G.P. The effect of a pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita acrita*. **Journal of Nematology**, v. 1, p. 287–288, 1969.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV. 2010, 306 p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n. 3, p. 241–263, 1999.

GAMLIEL, A.; AUSTERWEIL, M.; KRITZMAN, G. Non-chemical approach to soilborne pest management – organic amendments. **Crop Protection**, v. 19, p. 847–853, 2000.



GIANNAKOU, L.O. Efficacy of a formulated product containing *Quillaja saponaria* plant extracts for the control of root-knot nematodes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 130, n. 4, p. 587-596, 2011.

GUPTA, R.; SHARMA, N.K. A study of the nematicidal activity of allicin—na active principle in garlic, *Allium sativum* L., against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949. **International Journal of Pest Management**, v. 39, p. 390–392, 1993.

IBRAHIM, M.A.R.; SROUR, H.A.M. Saponins suppress nematode cholesterol biosynthesis and inhibit root knot nematode development in tomato seedlings. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 2, p. 123, 2013.

IKBAL, C.; MONIA, B.H.K.; MOUNIR, T.; WASSILA, H.; NAJET, R.; DORSAF, B.A.; MEJDA, D.; HABIB, B.H.M. Pesticidal potentialities of *Cestrum parqui* saponins. **International Journal of Agricultural Research**, v. 2, p. 275-281, 2007.

KANAGY, J.M.N.; KAYA, H.K. The possible role of marigold roots and  $\alpha$ -terthienyl in mediating host-finding by steinernematid nematodes. **Nematologica**, v. 42, p. 220–231, 1996.

KAPLAN, D.T.; KEEN, N.T.; THOMASON, I.J. Association of glyceollin with the incompatible response of soybean roots to *Meloidogyne incognita*. **Physiological Plant Pathology**, v. 16, p. 309–318, 1980.

LEELA, N.K.; KHAN, R.M.; REDDY, P.P.; NIDIRY, E.S.J. 1992. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v. 20, p. 57–58, 1992.

LEONETTI, P.; D'ADDABBO, T.; AVATO, P.; TAVA, A. Control of rootknot nematodes with biomasses from alfalfa (*Medicago sativa* L.) and their bioactive saponins. **Acta Horticulturae**, v. 914, p. 225–228, 2011.

LI, G.H.; DANG, L.Z.; HONG, L.J.; ZHENG, L.J.; LIU, F.F.; LI, L.; LIU, Y.J.; ZHANG, K.Q. Nematicidal activity of honokiol and magnolol isolated from magnolia tripetala. **Journal of Phytopathology**, v. 157, p. 390–392, 2009.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; SILVA E CASTRO, L.H. (Orgs). **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas, SP: Millenium, 2016. p. 1-13.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; FERREIRA, P.A. 2008. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, p. 17-21, 2008.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; FERREIRA, P.A.; AMORA, D.X. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2005.

MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologia**, v. 47, n. 1, p. 48-57, 2010.

MAHAJAN, R.; KAUR, D.J.; BAJAJ, K.L. Nematicidal activity of phenolic compounds against *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v. 20, p. 217–219, 1992.

MAHAJAN, R.; SINGH, P.; BAJAJ, K.L.; KALSI, P.S. Nematicidal activity of some sesquiterpenoids against rootknot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Nematologia**, v. 32, p. 119–123, 1986.

MAHMOOD, I.; SIDDIQUI, Z.A. 1993. Effect of phenolics on the growth of tomato and reproduction of *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Mediterranea**, v. 21, p. 97–98, 1993.

MAHESHWARI, D.K.; ANWAR, M. Nematicidal activity of some phenolics on root knot, growth and yield of *Capsicum frutescens* cv. California Wonder. **Journal of Phytopathology**, v. 129, p. 159–164, 1990.

MAJAK, W. Mammalian metabolism of toxic glycosides from plants. **Journal of Toxicology: Toxin Reviews**, v. 11, p. 1-40, 1992.

MALIK, M.S.; SANGWAN, N.K.; DHINDSA, K.S.; VERMA, K.K.; BHATTI, D.S. 1987. Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives. **Pesticides**, v. 21, p. 30–32, 1987.

MARBAN-MENDOZA, N.; JEYAPRAKASH, A.; JANSSON, H.B.; DAMON, R.A.; ZUCKERMAN, B.M. Control of root-knot nematodes on tomato by lectins. **Journal of Nematology**, v. 19, p. 331–335, 1987.

McCARTER, J. Molecular approaches toward resistance to plant-parasitic nematode. In: BERG, R.; TAYLOR, C. (Eds). **Cell Biology of Plant Nematode Parasitism**. Berlin/Heidelberg: Springer, 2009. p. 239–267.

MEHER, H.C.; WALIA, S.; SETHI, C.L. Effect of steroidal and triterpenic saponins on the mobility of juveniles of *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal of Nematology**, v. 18, p. 244–247, 1988.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M. T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E.; FAGG, C.W. Flora vascular do Bioma Cerrado: Checklist com 12.356 espécies. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: Embrapa Cerrados, v. 2, p. 423-1279, 2008.

MIAN, I.H.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Organic amendments with high tannin and phenolic contents for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. **Nematropica**, v. 12, n. 2, p. 221-234, 1982.

MIDIWO, J.O.; YENESEW, A.; JUMA, B.F.; DERESE, S.; AYO, J.A.; ALUOCH, A.O.; GUCHU, S. Bioactive compounds from some Kenyan ethnomedicinal plants: Myrsinaceae, Polygonaceae and *Psiadia punctulata*. **Phytochemistry Reviews**, v. 1, p. 311–323, 2002.

MOREIRA, L.C.B.; VIEIRA, B.S.; MOTA JÚNIOR, C.V.; LOPES, E.A. Ação nematicida do eugenol em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 286-291, 2013.

MUHAMMAD, N.; SAEED, M. Biological screening of *Viola betonicifolia* Smith whole plant.

**African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, p. 2323–2329, 2011.

MUNAKATA, K. Nematocidal natural products. In: WHITEHEAD, D.L.; BOWERS, W.S. (Eds). **Natural Products for Innovative Pest Management**. Oxford: Pergamon, 1983. p. 299–310.

NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; COUTINHO, M.M.; FERRAZ, S.; PARREIRA, D.F. Incorporação de farinha de semente de mamão ao solo, em diferentes doses, para o controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 36, p. 25-31, 2012.

NEVES, W.S.; FREITAS L.G.; FABRY, C.F.S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERREIRA P.A.; FERRAZ, L.O.; DHINGRA, O.D.; FERRAZ. S. Ação nematicida de óleo, extratos vegetais e de dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 93-100, 2008.

NICOL, J.M.; TURNER, S.J.; COYNE, D.L.; DEN NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, Z.T. Current nematode threats to world agriculture. In: JONES, J.T.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Eds). **Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions**. Heidelberg: Springer, 2011. p. 21–44.

NTALLI, N.G., FERRARI, F., GIANNAKOU, I., MENKISSOGLU-SPIROUDI, U. Phytochemistry and nematicidal activity of the essential oils from 8 Greek Lamiaceae aromatic plants and 13 terpene components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7856-7863, 2010a.

NTALLI, N.G.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; GIANNAKOU, I.O. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. **Annals of Applied Biology**, v. 156, n. 2, p. 309-317, 2010b.

NTALLI, N.G.; CABONI, P. Botanical nematicides: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 40, p. 9929-9940, 2012.

ODEYEMI, I.S.; ADEWALE, K.A. Phytonematotoxic properties and nematicidal potential of *Tithonia diversifolia* extract and residue on *Meloidogyne incognita* infecting yam (*Discoria rotundata*). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, p. 1745-1753, 2011.

OKA, Y. Nematicidal activity of *Verbesina encelioides* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and effects on plant growth. **Plant and Soil**, v. 355, n. 1, p. 311-322, 2012.

OKA Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their componentes against the root-knot nematode. **Phytopathology**, v. 90, p. 710-715, 2000.

OLABIYI, T.I.; OYEDUNMADE, E.E.A.; IBIKUNLE, G.J. Phytochemical screening and nematotoxic effect of brimstone, *Morinda lucida*, on nematode pests of amaranth, *Celosia argentea*. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 26, p. 131-137, 2008.

OSMAN, A.A.; VIGLIERCHIO, D.R. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. **Revue de Nematologie**, v. 11, p. 93-98, 1988.

PROT, J.C; KORNPORST, J.M. 1983. Étude préliminaire de l'action des quassinoides extraits de *Hannoa undulata* sur les juvéniles du nématode *Meloidogyne javanica*. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences: Série 3**, v. 296, p. 555-557, 1983.

QAMAR, F.; BEGUM, S.; RAZA, S. M.; WAHAB, A.; SIDDIQUI, B. S. Nematicidal natural products from the aerial parts of *Lantana camara* Linn. **Natural Product Research**, v. 19, p. 609–613, 2005.

RENUKAPPA, T.; ROOS, G.; KLAIBER, B.; VOGLER, B.; KRAUS, W. Application of high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectrometry, mass spectrometry and bioassay for the determination of active saponins from *Bacopa monniera* Wettst. **Journal of Chromatography A**, v. 847, p. 109–116, 1999.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Eds). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa CPAC, 1988. p. 85-166.

RICH, J.R.; KEEN, N.T.; THOMASON, I.J. 1977. Association of coumestans with the hypersensitivity of lima bean roots to *Pratylenchus scribneri*. **Physiological Plant Pathology**, v. 10, p. 105–116, 1977.

ROY, D.; SINHABABU, S.P.; SUKUL, N.C.; MAHATO, S.B. 1993. Nematicidal principle from the funicles of *Acacia auriculiformis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 23, p. 152–57, 1993.

SAHA, S.; WALIA, S.; KUMAR, J.; PARMER, B.S.; PRASAD, D. Synergistic/potential interaction between nematostatic constituents from *Azadirachta indica*, *Madhuca indica* and *Sapindus mukorossi*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 43, p. 357–367, 2010.

SAN MARTÍN, R.; MAGUNACELAYA, J.C. Control of plant-parasitic nematodes with extracts of *Quillaja saponaria*. **Nematology**, v. 7, n. 4, p. 577-585, 2005.

SANGWAN, N.K.; VERMA, B.S.; VERMA, K.K.; DHINDSA, K.S. Nematicidal activity of some essential plant oils. **Pesticides Science**, v. 28, p. 331–335, 1990.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: The role of the society. In: VEECH, J.A.; DICKSON, D.W. (Eds). **Vistas on Nematology: A Commemoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7–14.

SPARG, S.G.; LIGHT, M.E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2, p. 219-243, 2004.

SUGA, T.; OHTA, S.; MUNESADA, K; IDE, N.; KUROKAWA, M.; SHIMIZU, M.; OHTA, E. Endogenous pine wood nematocidal substance in pines, *Pinus massioniana*, *P. strobus* and *P. palustris*. **Phytochemistry**, v. 33, p. 1395–1401, 1993.

TABA, S.; SAWADA, J.; MOROMIZATO, Z.I. Nematicidal activity of Okinawa Island plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid



and White) Chitwood. **Plant and Soil**, v. 303, n. 1, p. 207-216, 2008.

TADA, M.; HIROE, Y.; KIYOHARA, S.; SUZUKI, S. Nematicidal and antimicrobial constituents from *Allium grayi* Regel and *Allium fistulosum* L. var. *caespitosum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, p. 2383–2385, 1988.

TAVA, A.; AVATO, P. Chemical and biological activity of triterpene saponins from *Medicago* species. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 12, p. 1159-1180, 2006.

THE WORLD BANK. 2016. **GDP (Current US\$)**. Disponível em: <<http://databank.worldbank.org/data/download/GDP.pdf>>. Acesso em: 11 de julho de 2017.

THODEN, T.C.; BOPPRÉ, M. Plants producing pyrrolizidine alkaloids: Sustainable tools for nematode management. **Nematology**, v. 12, p. 1–24, 2010.

WU, H.; WANG, C.J.; BIAN, X.W.; ZENG, S.Y.; LIN, K.C.; WU, B.; ZHANG, G.; ZHANG, X. Nematicidal efficacy of isothiocyanates against root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in cucumber. **Crop Protection**, v. 30, n. 1, p. 33-37, 2011.

ZASADA, I.A.; WEILAND, J.E.; REED, R.L.; STEVENS, J.F. Activity of meadowfoam (*Limnanthes alba*) seed meal glucolimnanthin degradation products against soilborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 339-345, 2012.

ZHAO, B.G. Nematicidal activity of quinolizidine alkaloids and the functional group pairs in their

molecular structure. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, p. 2205–2214, 1999.

ZINOVIEVA, S.V.; CHALOVA, L.I. Phytoalexins of potato and their role in the resistance to stem nematodes. **Helminthologia**, v. 24, p. 303–309, 1987.

ZINOVIEVA, S.V.; UDALOVA, Z.V.; VASIKJEVA, I.S.; PASESCHNICHENKO, V.A. Action of sterol glycosides on *Meloidogyne incognita* infecting tomato and cucumber roots. **Russian Journal of Nematology**, v. 5, p. 77–80, 1997.



CAPÍTULO

8

**METODOLOGIAS PARA  
CARACTERIZAÇÃO  
QUÍMICA DO TOMATE  
VISANDO À APLICAÇÃO NO  
MELHORAMENTO**

**Maria Elisa de Sena Fernandes** <sup>(1)</sup>

**Flávio Lemes Fernandes** <sup>(1)</sup>

**Natalia Oliveira Silva** <sup>(1)</sup>

**Myller Marques de Oliveira Assunção** <sup>(1)</sup>

**Rosa Angelica Plata Rueda** <sup>(1)</sup>

**Salmo de Melo Davi Júnior** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: maria.sena@ufv.br

*Introdução*

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas no mundo, sendo que a produção mundial de tomate no ano de 2014 foi superior a 170 milhões de toneladas. O Brasil é o nono colocado no ranking mundial, com área plantada, em 2016, de 54,7 mil hectares, produção de 3,5 milhões de toneladas e produtividade de 65 mil t ha<sup>-1</sup>. Goiás, São Paulo e Minas Gerais são os maiores produtores de tomate do Brasil, com produção de 818, 753 e 739

mil toneladas, respectivamente, que somados representam mais de 65% da produção nacional.

Os frutos de tomate contêm principalmente água, açúcares, como frutose, glicose, sacarose, rafinose, arabinose, xilose e galactose, ácidos orgânicos, como ácidos cítrico, glutâmico e málico. Podem conter também carotenoides, como licopeno,  $\beta$ -caroteno, luteínas, vitaminas B, C e E, compostos fenólicos, como flavonoides e minerais. Além disso, o tomateiro desenvolveu diferentes estratégias de defesa contra pragas, incluindo estruturas morfológicas que formam uma primeira linha de defesa à capacidade de sintetizar compostos químicos. Características da planta que afetam a biologia de herbívoros, como a proteção mecânica na superfície de hastes e folhas (por exemplo: tricomas, espinhos, folhas mais espessas), ou compostos químicos tóxicos que matam ou retardam o desenvolvimento de insetos são descritos como defesa direta. Além disso, defesas indiretas como voláteis são liberados para atrair seus inimigos naturais ou fornecer alimentos (por exemplo, néctar extrafloral) e habitação para aumentar a eficácia dos inimigos naturais.

O aumento de atributos associados à qualidade nutricional e resistência do tomateiro a artrópodes pragas é o objetivo de programas de melhoramento da cultura. Portanto, a caracterização dos acessos que compõem os bancos de germosplasmas deve ser prioridade para o manejo dos recursos genéticos. O banco de germoplasma tem a função de conservar os

genes que poderão explorados nos programas de melhoramento.

### *Importância dos compostos e estrutura presentes tomateiro*

#### *Compostos relacionados à qualidade do tomateiro*

O teor de sólidos solúveis (SS) é responsável pelo sabor adocicado do fruto de tomate. O pH determina a concentração de ácidos orgânicos presentes nos frutos, enquanto isso a acidez titulável (AT) também é um atributo importante para determinação da qualidade nutricional dos frutos. O teor de SS, o pH e AT estão diretamente relacionados à aceitabilidade dos frutos de tomate pelos consumidores. O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco presente na maioria das frutas, é um ácido tricarboxilado. O balanço entre acidez e açúcares caracteriza o tomate no ponto de vista sensorial, sendo responsável por seu sabor característico.

Os carotenoides são substâncias que conferem cor aos frutos de tomate e estão relacionados a diversas funções relacionadas à saúde humana, como, fortalecimento do sistema imunológico, redução dos riscos de doenças degenerativas e cardiovasculares, catarata e câncer. Os carotenoides são antioxidantes e atuam como precursores da vitamina A. O principal carotenoide presente nos frutos de tomate é o

licopeno ( $C_{40}H_{56}$ ), que representa mais de 60% dos carotenoides totais na hortalíça, somando  $\beta$ -carotenos e luteínas são 90% dos carotenoides totais. Os frutos de tomate contêm de 30 a 400  $\mu\text{g g}^{-1}$  de licopeno na polpa e 20 a 30  $\mu\text{g g}^{-1}$  na casca. O licopeno proporciona coloração vermelha aos frutos de tomate, aumentando a percepção visual pelo consumidor.

O ácido ascórbico ou vitamina C apresenta concentrações consideráveis nos frutos do tomateiro, é um antioxidante hidrossolúvel que atua como redutor de espécies reativas, por ser um doador de elétrons. A quantidade de ácido ascórbico pode ser alterada com o estágio de maturação. A ingestão diária ácido ascórbico (vitamina C) é de 25, 75 e 90 mg para crianças, mulheres e homens, respectivamente. A deficiência de ácido ascórbico no organismo humano é relacionada à ocorrência de escorbuto (sangramento da gengiva), dificuldade na cicatrização de feridas, fadiga e anemia. A polpa de tomate contém em média 0,21  $\text{mg g}^{-1}$  de polpa, essa concentração é baixa quando comparada com frutas cítricas, como a acerola (*Malpighia emarginata*) e a laranja (*Citrus* sp.) que apresentam 16 e 0,62  $\text{mg g}^{-1}$  de polpa, respectivamente.

Os ácidos caféico e clorogênico são os principais ácidos fenólicos presentes no tomateiro. O ácido caféico funciona como um precursor do ácido clorogênico, sendo este caracterizado por sua atividade antioxidante média, encontrado na fração hidrossolúvel do tomate. Estes ácidos fenólicos

presentam suas concentrações alteradas mediante o amadurecimento dos frutos.

A alfatomatina é encontrada em toda a planta, na raiz, caule, folhas, flores e frutos do tomateiro. É um glicoalcaloíde esteroideal que de acordo com o estágio de desenvolvimento tem suas concentrações alteradas. Nos frutos verdes, apresenta sua maior concentração, sendo no momento da colheita iniciada sua degradação.

Os principais minerais encontrados nos frutos de tomate são: potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). O K auxilia nos processos de síntese e translocação de carboidratos para os frutos, e síntese de carotenoides. O consumo de K pode reduzir doenças cardíacas e atuar na prevenção de doenças renais, osteoporose e diabetes. O cálcio (Ca) macronutriente essencial para o crescimento celular e expansão dos frutos e para a cimentação da lamela média celular, aumentando a estabilidade da parede celular, conseqüentemente, maior vida de prateleira do fruto, influenciando diretamente a qualidade dos frutos.

### *Estrutura morfológica que confere resistência a insetos*

Os tricomas, tanto glandulares como não glandulares, são características proeminentes da folhagem observadas em diferentes variedades do tomateiro. Quatro tipos de tricomas glandulares ocorrem mais os tricomas de tipo IV e VI foram



associados com altos níveis de resistência a artrópodes. Os tricomas tipo IV têm um curto caule multicelular em base monocelular e produz uma gota de exsudado. Os tricomas de tipo VI têm foram envolvidos no aprisionamento de pulgões e outros pequenos artrópodes que sujam as pernas, partes bucais e enredando-as no exsudado. Os mecanismos químicos responsáveis pelos efeitos tóxicos em insetos são derivados do metabolismo secundário das plantas e produzidos por tricomas.

### *Compostos químicos e resistência do tomateiro a insetos*

No tomateiro, compostos derivados do metabolito secundário para defesa química variam de peso molecular como terpenos, fenólicos, nitrogênio e compostos contendo enxofre, peptídeos e proteínas. Metabolitos secundários são compostos orgânicos que não estão diretamente envolvidos no crescimento, desenvolvimento ou reprodução de plantas, mas são essenciais para sua sobrevivência. As propriedades inseticidas desses compostos são diversas e atuam como repelentes de alimentação, ou induzem toxicidade direta que leva a sintomas que vão desde a inibição de larvas ou crescimento de insetos até a morte, dependendo da dosagem ingerida. Os compostos voláteis mediam principalmente repelência, no entanto, compostos não voláteis podem atuar após contato próximo de insetos com a planta. A consequência do efeito repelente dos

compostos da planta é uma modificação na herbivoria dos insetos. Estes excluem produtos químicos que suprem a alimentação, atuando no centro do sistema nervoso (após ingestão e absorção) ou podem ter efeitos tóxicos subletais contra insetos. Os metabolitos secundários podem ser constitutivos (armazenados como formas inativas) ou induzidos em resposta ao ataque inicial de insetos. Os primeiros são conhecidos como fitoanticipinos e o último como fitoalexinas. As defesas induzidas são mediadas por metabolitos móveis com um peso molecular relativamente baixo produzido a baixo custo somente após o ataque de inseto. As fitoanticipinas são principalmente ativadas pelo  $\beta$ -glucosidase durante a alimentação e podem mediar a liberação de vários metabolitos de ação biocida. Os exemplos clássicos de fitoanticipinas são glucosinolatos e benzoxazinoides. As fitoalexinas incluem terpenoides, isoflavonoides e alcalóides que influenciam o desempenho e a sobrevivência de os herbívoros.

Os terpenoides são biosintetizados a partir de acetil-CoA ou intermediários glicolíticos. Eles são classificados com base no número de unidades de isopreno (elementos de 5 carbonos); 2 unidades de isopreno são chamados monoterpénoides (10-carbono), 3 unidades de isopreno são sesquiterpénoides (15-Carbono), 4 unidades de isopreno são diterpénoides (20-carbono), 5 unidades de isopreno são sesterterpénoides (25 carbonos), 6 unidades de isopreno são triterpénoides (30 carbonos), 8 isopreno as unidades são

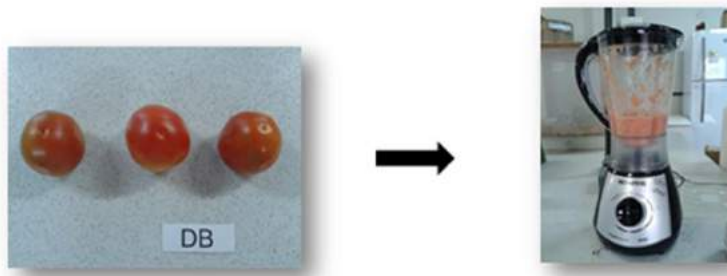
tetraterpenoides (40-carbono) e os terpenos com mais unidades de isopreno são classificados como politerpenoides (7). Terpenoides são os compostos da planta mais metabolicamente diversificados e bioativos. Os terpenoides de tomate são encontrados em grandes quantidades nos tricomas glandulares que estão presentes em folhas, hastes, frutos jovens e parte das flores. Os precursores na produção de terpenoides são o ácido jasmônico e sistemina que medeiam à sinalização local e sistêmica, levando à expressão direta de genes relacionados à defesa. Em este contexto, a herbivoria induz a liberação proteolítica da sistemina. A sistemina interage como receptor ligado à membrana plasmática, levando a uma cascata de sinalização que resulta na liberação mediada por lipase do ácido linolênico a partir de lipídios da membrana. O ácido linolênico é convertido em ácido jasmônico através de uma sequência de enzimas. Tratamentos feitos com ácido jasmônico em plantas de tomate aumentam a produção de monoterpenos como linalol, (E,E)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno, e homoterpeno C<sub>16</sub> derivado da clivagem oxidativa do diterpenogeryllinalol. Embora, em plantas não tratadas com ácido jasmônico, os monoterpenos são abundantemente emitidos, por exemplo: b-pinene, b-myrcene, 2-carene, b-phellandrene, limoneno e terpinoleno são emitidos de forma constitutiva, enquanto a emissão de linalol e b-ocimenesão induzidas após alimentação de ácaros.

A criação de tomate tem sido extremamente eficiente no aumento da qualidade e quantidade de frutas, mas não se concentrou em melhorar a resistência aos herbívoros. A via biossintética para a produção de 7-epizingibereno em um tomate selvagem foi introduzida em uma variedade de estufa cultivada com o objetivo de obter resistência aos herbívoros. 7-epizingiberene é um sesquiterpeno específico com propriedades tóxicas e repelentes que é produzido e armazenado em tricomas glandulares. Identificamos 7-epizingiberene sintase (ShZIS) que pertence a uma nova classe de sesquiterpenosintase, usando exclusivamente Z-Z-farnesil-difosfato (zFPP) em plastídios, provavelmente surgido através da neofuncionalização de um antepassado comum. A expressão das sintases ShZIS e zFPP nos tricomas glandulares do tomate cultivado resultou na produção de 7-epizingiberene. Estes tomates ganharam resistência a vários herbívoros que são pragas do tomate. Assim, a introdução desta via biossintética de sesquiterpeno em tomates cultivados resultou em melhor resistência a herbívoros.

### *Métodos para determinação dos compostos químicos no tomateiro*

Todas as análises dos compostos químicos descritos abaixo são realizadas após trituração dos frutos vermelhos (estágio de maturação fisiológica) em triturador elétrico por 3 min, tempo necessário

para obtenção do extrato homogêneo (sem pedaços de frutos e sem adição de água) (Figura 1).



**Figura 1.** Preparo do extrato de tomate para as análises químicas. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

O pH pode ser obtido em pHmetro de bancada calibrado pela imersão em solução tampão com pH em três níveis (6,86, 4,01 e 9,18). As leituras de pH devem ser realizadas pela imersão do eletrodo diretamente no extrato em cada repetição (Figura 2).



**Figura 2.** pHmetro de bancada. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

Os sólidos solúveis (SS) são determinados em refratômetro digital portátil previamente calibrado para temperatura de 26 °C, pela adição da extrato diretamente sobre a lâmina de leitura do equipamento, sendo que os dados serão expressos em °Brix (Figura 3).



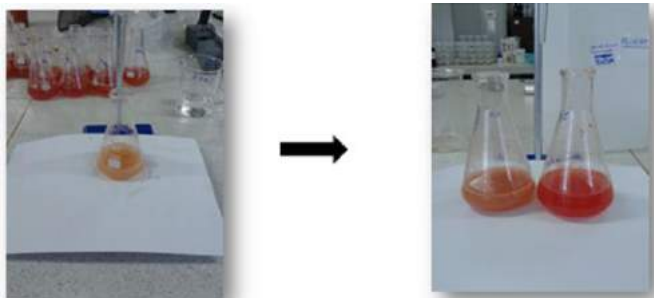
**Figura 3.** Refratômetro digital. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

A acidez titulável (AT) pode ser determinada por titulação colorimétrica de 10 g de polpa, diluídas em 30 mL de água destilada em solução de NaOH 0,05 mol L<sup>-1</sup> padronizada. O ponto de viragem do pH 8,1 pode detectado por corante de fenolftaleína a 1% apresentando cor rósea intensa (Figura 4).

$$AT = \frac{V \times N \times E}{10 \times M} \quad (1)$$

Em que: AT = Acidez titulável (% de ácido cítrico), V = Volume da solução de NaOH gasto para atingir pH 8,1 (mL), N = Normalidade, E = Equivalente do ácido

predominante (64,02 g para ácido cítrico) e M = Massa da amostra utilizada (g).



**Figura 4.** Determinação da acidez titulável. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

A relação (SS/AT) entre os sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT) da polpa pode ser calculada.

O teor de ácido ascórbico pode ser determinado pela titulação de 10 g de polpa de tomate diluídas em 50 mL em ácido oxálico (1%), em solução de Tillmans (2,6 diclorofenolindofenol), conforme o método de Strohecker & Henning (1967) (Figura 5).

$$AA = \frac{n}{\frac{n'}{AA'} \times M} \quad (2)$$

Em que: AA = Ácido Ascórbico ( $\text{mg g}^{-1}$ ), n = Volume de solução de Tillmans em mL gasto na titulação da amostra, n' = Volume da solução de Tillmans em mL gasto na padronização, AA' = Quantidade de ácido ascórbico utilizado na padronização e M = Massa da amostra usada na titulação (g).

Os teores de licopeno e carotenoides totais podem ser determinados com a mistura de 5 g de polpa de tomate à 40 mL de acetona e homogeneizados com bastão de vidro. Em seguida, a mistura será submetida à agitação a 200 rpm por 1 h em mesa agitadora de bancada, filtrada com papel filtro, funil de Büchner e kitassato, envolto com papel alumínio para a proteção dos pigmentos foto-oxidáveis e bomba a vácuo. O filtrado (amostra) será transferido para um funil de separação de vidro (de 250 mL) contendo 45 mL de éter de petróleo. Nesta fase, a amostra apresenta duas fases líquidas, a fase inferior contendo acetona e a outra fase com éter de petróleo e os pigmentos. A fase inferior será descartada, o éter de petróleo e os pigmentos serão deixados no funil de separação para a lavagem da amostra três vezes com água destilada. A amostra será transferida para um balão volumétrico (100 mL), completando-se o volume com éter de petróleo até 100 mL. A leitura do extrato será realizada em espectrofotômetro de absorção atômica à 470 nm (pico de absorção de licopeno).





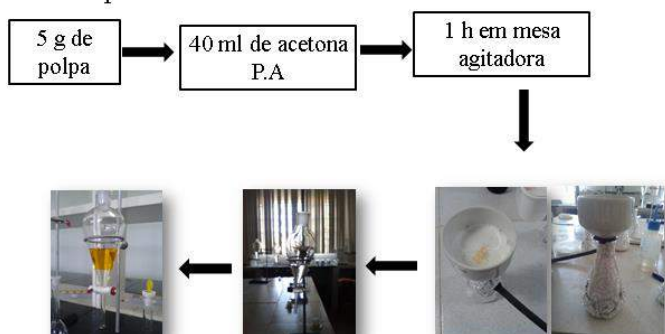
**Figura 5.** Determinação do ácido ascórbico. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

$$LI = \frac{A \times D \times V \times 10000}{E \times M} \quad (3)$$

Em que: LI = Teor de licopeno ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), A = Absorbância à 470 nm, D = Fator de diluição do extrato, V = Volume do balão volumétrico (100 mL), E = Coeficiente de absorvidade molar do licopeno em éter de petróleo (3450) e M = Massa da amostra (g)

$$CT = \frac{A \times D \times V \times 10000}{E \times M} \quad (4)$$

Em que: CT= Teor de carotenoides totais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), A = Absorbância à 470 nm, D = Fator de diluição do extrato, V = Volume do balão volumétrico utilizado (100 mL), E = Coeficiente de absorvidade referente aos carotenoides totais em éter de petróleo (2592) e M = Massa da amostra (g).



**Figura 6.** Determinação do Licopeno e Carotenoides totais. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

Para a determinação dos minerais, cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e sódio (Na) utiliza-se as amostras secas de frutos de tomate colhidos aos 114 DAT (outono-inverno) e 96 DAT (primavera-verão). As amostras foram trituradas em moinho tipo Wiley e digeridas em solução nitroperclórica na proporção de 3:1 de ácido nítrico e ácido perclórico. O Ca e Mg podem ser quantificados por espectrofotometria de absorção atômica e o K e Na por fotometria de emissão de chama (Malavolta et al., 1997) (Figura 7).



**Figura 7.** Espectrofotômetro de absorção atômica. Fonte: Natalia Oliveira Silva (2017).

## *Considerações finais*

A caracterização química do tomateiro é muito importante uma vez que pode auxiliar em programas de melhoramento que visam a qualidade nutricional do tomateiro ou até mesmo em programas que visam resistência do tomateiro a insetos pragas. Assim, essa caracterização química se torna um passo essencial para a concretização do melhoramento desta cultura agregando um valor a mais ao cultivar ou híbrido que será obtido no final do programa de melhoramento.

## *Referências*

ARANHA, F.Q.; BARROS, Z.F.; MOURA, L.S.A.; GONÇALVES, M.C.R.; BARROS, J.C.; METRI, J.C.; Souza, M.S de. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 89-97, 2000.

BORGUINI, R.G. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional**. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, p. 178. 2006.

CAMPOS, F.M. **Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando a preservação de vitamina C e carotenoides**. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, p. 92. 2006.

MONTEIRO, C.S.; BALBI, M.E.; MIGUEL, O.G.; PENTEADO, P.T.P.S.; HARACEMIV, S.M.C. Qualidade nutricional e antioxidante do tomate "tipo italiano". **Revista Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 25-31, 2008.

FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Revista Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 564-570, 2002.

LUENGO, R.F.A.; PARMAGNANI, R.M.; PARENTE, M.R.; LIMA, M.F.B.F. **Tabela de composição nutricional das hortaliças**. (Documentos, 26). Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2000. 4 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS. 1997, 319 p.



CAPÍTULO

9

**DERIVA EM  
PULVERIZAÇÕES  
HIDRÁULICAS DE  
AGROTÓXICOS**

**João de Deus Godinho Júnior** <sup>(1)</sup>

**Renato Adriane Alves Ruas** <sup>(1)</sup>

**Lucas Caixeta Vieira** <sup>(2)</sup>

**Luiz Otavio Alves Pereira** <sup>(3)</sup>

**Vinícius Ribeiro Faria** <sup>(4)</sup>

**Alberto Carvalho Filho** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mails: joao.godinho@ufv.br; raaruas@gmail.com; albertoufv@gmail.com. <sup>(2)</sup> Engenheiro Agrônomo - Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. <sup>(3)</sup> Graduando em Agronomia - Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. <sup>(4)</sup> Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mail: vinicius.faria@ufv.br.

*Introdução*

A aplicação de agrotóxicos é uma técnica eficaz no controle das pragas, doenças e plantas daninhas, o que a torna muito importante para a produção de alimentos em quantidades necessárias para sustentar a população mundial cada vez crescente. Porém, quando a aplicação é realizada de modo errado, pode causar uma série de danos ao meio ambiente e a

saúde humana (Jardim et al., 2009; Dellamatrice & Monteiro, 2014; Parrón et al., 2014). Boa parte dos problemas ocorridos antes, durante e depois das aplicações de agrotóxicos são oriundos da deriva.

A deriva é todo o deslocamento da calda pulverizada para longe do alvo almejado, seja este uma planta daninha, inseto, fungo ou bactéria, levando, a perda do agrotóxico aplicado (Souza et al., 2011). Essas perdas dentro da lavoura podem ocorrer pelo escorrimento das gotas para o solo ou pela deposição em qualquer outro local dentro da cultura que não seja de interesse (endoderiva). Por outro lado, perdas para fora da lavoura são denominadas como exoderiva.

Ademais, qualquer percentual do ingrediente ativo aplicado que não atingir o alvo de interesse, não tem eficiência nenhuma, além de ser uma perda que contribui para a contaminação ambiental (Shiratsuchi & Fontes, 2002). Assim, através da tecnologia de aplicação de agrotóxicos, tem se o objetivo de empregar todos os conhecimentos científicos para a correta deposição do produto aplicado no alvo de interesse, em quantidade mínima necessária, de forma econômica e com a menor contaminação ambiental (Matuo, 1998).

Para o controle da deriva, existe uma série de medidas que podem ser empregadas. Dentre elas, podemos destacar a escolha dos equipamentos utilizados na pulverização da calda, a forma que é realizada a aplicação, a solução que será pulverizada e as condições climáticas durante a operação no campo.

## *Equipamentos de pulverização*

Existe no mercado uma infinidade de modelos de equipamentos voltados para a aplicação de agrotóxicos. Em relação aos pulverizadores hidráulicos, que são os mais utilizados, podemos citar, desde pulverizadores de arraste até os modernos autopropelidos.

Porém, independente do modelo utilizado, todos utilizam do princípio da pulverização hidráulica. Onde, a solução de aplicação é pressurizada por uma bomba de alta pressão e o líquido passa por um orifício de diâmetro reduzido. Esse orifício é a parte final da ponta hidráulica de pulverização.

Desta forma, as pontas hidráulicas são diretamente responsáveis pela fragmentação da solução de aplicação e formação das gotas, sendo determinantes para a qualidade, segurança da pulverização e diminuição da deriva (Fernandes et al., 2007; Ferreira et al., 2011).

No entanto, é fundamental que as pontas de pulverização produzam um espectro de gotas o mais homogêneo possível, sendo indesejáveis as gotas com um diâmetro muito elevado ou muito pequeno, pelo fato de favorecerem deriva por escorrimento e deriva pelo vento, respectivamente (Cunha et al., 2010). Porém, as pontas hidráulicas possuem como característica produzirem um espectro e população de gotas muito desuniformes, o que dificulta a boa cobertura do alvo e favorece as perdas.



Dentre os vários modelos de pontas, aquelas com pré-orifício e, ou com o sistema ventura de indução de ar, foram concebidas com o objetivo de diminuir o percentual de produto aplicado perdido por deriva, e por isso são denominadas pontas antideriva. Esses modelos de pontas hidráulicas produzem gotas com um maior diâmetro, e assim, menos susceptíveis de serem carregadas pelo vento, reduzindo a deriva.

Estes modelos de pontas são indicados para aplicação de produtos que necessitam de menor cobertura do alvo, como os herbicidas aplicados em pré-emergência e os de ação sistêmica (Viana et al., 2007). Ademais, avaliações demonstraram que pontas dotadas de indução de ar podem reduzir a ocorrência da deriva em torno de 50 a 90%, quando comparadas a pontas convencionais sem o sistema de indução de ar (Miller, 2004).

No caso das pontas com o sistema de pré-orifício o líquido a ser pulverizado passa por um orifício, chegando a uma pré-câmara e em seguida segue para outro orifício que leva ao exterior da ponta hidráulica. Esse sistema diminui a velocidade do líquido, e conseqüentemente, reduz em cerca de 50 a 80% a formação de gotas pequenas com diâmetro inferior a 200  $\mu\text{m}$  (Boller & Raetano, 2011).

Por outro lado, as pontas hidráulicas com indução de ar fazem uso do princípio de ventura para injetar ar ao líquido pulverizado, gerando gotas com diâmetro maior e com até 10% de seu volume constituído de ar (Guler et al., 2007). Estes modelos de

pontas succionam o ar do ambiente externo para o seu interior através de orifícios, misturando-o com a solução de aplicação, e assim, gera gotas maiores (Vallet & Tinet, 2013). Desta forma, a deriva gerada pelo transporte das gotas pelo vento é reduzida (Nuyttens et al., 2007).

### *Forma de aplicação*

A forma que é realizada a aplicação do agrotóxico também influencia diretamente a ocorrência da deriva. Dentre as principais regulagens que devem ser observadas e corrigidas se necessário, destacam-se, a pressão de trabalho do sistema de pulverização, a altura da barra de pulverização em relação ao solo e a velocidade de deslocamento do pulverizador.

A pressão de trabalho do sistema de pulverização é a energia hidráulica que é necessária para romper a tensão superficial da solução de aplicação e produzir as gotas e também determinar a vazão. Quanto maior a pressão de trabalho, maior será a vazão, o número de gotas produzidas e menor o diâmetro, o que favorece a ocorrência da deriva (Boller & Raetano, 2011).

Porém, existem algumas ressalvas como, por exemplo os modelos de pontas do tipo jato cone vazio, que foram desenvolvidos para operarem em maiores pressões, e as pontas com a indução de ar, onde, a inclusão de ar pelo sistema venturi não é eficiente com pressões inferiores a dois bar,

normalmente para essas pontas, variando conforme o modelo, é recomendando uma pressão de trabalho entre dois e 10 bar (Boller & Raetano, 2011).

Em relação à altura de aplicação e a velocidade de deslocamento do pulverizador, estes dois fatores tem relação direta com a ocorrência da deriva. Onde, o aumento da altura da barra de pulverização em relação ao solo e/ou o aumento da velocidade de deslocamento do pulverizador, aumentam a quantidade de calda pulverizada que é transportada pelo vento, e conseqüentemente, perdida por deriva (Cunha, 2008).

### *Solução de aplicação*

Cada agrotóxico pode ser produzido de uma forma, e em sua formulação pode ser adicionada ou não uma série de compostos que alteram as propriedades físicas e químicas finais do produto comercializado. E assim, influenciar as características da solução de aplicação, resultantes da mistura em tanque entre água e o produto.

Dentre tais propriedades, podemos citar a viscosidade, que influencia diretamente na fragmentação da solução de aplicação, onde maior viscosidade favorece a produção de gotas de maior diâmetro e a menor viscosidade gotas de menor diâmetro, que são mais susceptíveis a serem carreadas pelo vento.

No mercado também existe uma diversidade de adjuvantes, que podem ser adicionados ao

agrotóxico no tanque do pulverizador. Estes produtos atuam como condicionadores, com o objetivo de melhorar as propriedades físicas e químicas da calda. Estes produtos químicos atenuam os efeitos negativos das adversas condições climáticas e morfofisiológicas da planta e podem elevar a eficácia do controle (Carbonari et al., 2005).

O fato da adição de adjuvantes a solução de aplicação tornar a calda menos susceptível às variações de temperatura ambiente e de umidade relativa do ar (Nascimento et al., 2012; Vilela & Antuniassi, 2013) é muito desejável para reduzir as perdas durante a aplicação na lavoura. Porém, os seus efeitos no espectro e população de gotas e consequentemente na cobertura do alvo e na perda por deriva, podem variar de acordo com o modelo de ponta hidráulica utilizado (Cunha et al., 2010; Gandolfo et al., 2013).

Ademais, apesar de influenciarem o tamanho das gotas geradas e o seu transporte pelo vento, o diâmetro das gotas varia, sobretudo, de acordo com o modelo de ponta hidráulica utilizado e a pressão de trabalho empregada no sistema de pulverização (Spanoghe et al., 2007; Iost & Raetano, 2010; Costa et al., 2014).

### *Condições climáticas*

Durante a realização da pulverização existe uma série de parâmetros que são definidos pelo ambiente e podem variar no decorrer do dia. No entanto,

afetam diretamente a distribuição e, conseqüentemente, a eficácia do produto aplicado.

Dentre esses fatores, podemos destacar a temperatura ambiente, a velocidade e direção do vento, a umidade relativa do ar e a presença ou não de orvalho. A redução da umidade relativa do ar e/ou a elevação da temperatura ambiente, diminui o tempo médio de vida das gotas produzidas, e conseqüentemente, reduz a absorção do ingrediente ativo pulverizado. Ademais, ocorrência de água sobre as folhas, pode restringir a eficácia da operação, pois, favorece a diluição e o escorrimento do produto aplicado (Roman et al., 2004).

Porém, no intuito de controlar a interferência negativa das condições climáticas durante a realização das aplicações, pesquisas veem buscando a construção de equipamentos que analisam e adequam a pulverização às variações climáticas (Alvarenga et al., 2013; Stanislavski et al., 2014).

De forma geral, não é recomendada a aplicação de agrotóxicos em temperatura superiores a 30 °C, umidade relativa do ar inferior a 60% e velocidade do vento superior a 10 km h<sup>-1</sup>, sendo, o ideal, velocidade do vento entre 3 e 6,5 km h<sup>-1</sup> (Rodrigues & Almeida, 2011).

### *Quantificação da deriva*

Uma das principais metodologias empregadas para a quantificação do percentual de produto

aplicado que está sendo perdido por deriva, é a que utiliza túnel de vento (Figura 1) para simular as características da aplicação em campo. Essa avaliação se destaca por diagnosticar e isolar em condições controladas, a influência dos equipamentos utilizados na pulverização, da forma que é realizada a aplicação, da solução que é pulverizada e das condições climáticas, na ocorrência da deriva (Chechetto et al., 2013; Gandolfo et al., 2014; Oliveira et al., 2015).

O túnel de vento é uma instalação experimental com o objetivo de determinar a deriva, de forma estável e controlada, com a utilização de alvos para coletar as gotas carregadas pelo vento no seu interior (Moreira Júnior, 2009).

Esse equipamento pode ser construído de madeira protegida da umidade por pintura (Figura 1). Para a uniformização da corrente de ar produzida pelo ventilador e gerar fluxo com escoamento laminar, é necessária uma estrutura posicionada logo após o ventilador (Figura 2). Esta estrutura pode ser constituída primeiramente por duas telas, uma metálica e outra de nylon e, posteriormente, por uma colmeia composta por tubos quadrados de alumínio (Moreira Junior & Antuniassi, 2010).

Para regular a velocidade de giro das hélices do ventilador e gerar intensidade de corrente de ar adequada para realizar os ensaios de deriva, é utilizado um potenciômetro no ventilador. No sistema de pulverização pode ser utilizado uma bomba de pistão, acionada por motor elétrico de indução monofásico e equipada com comando manual e

manômetro de glicerina para ajuste e aferição da pressão de trabalho, respectivamente.



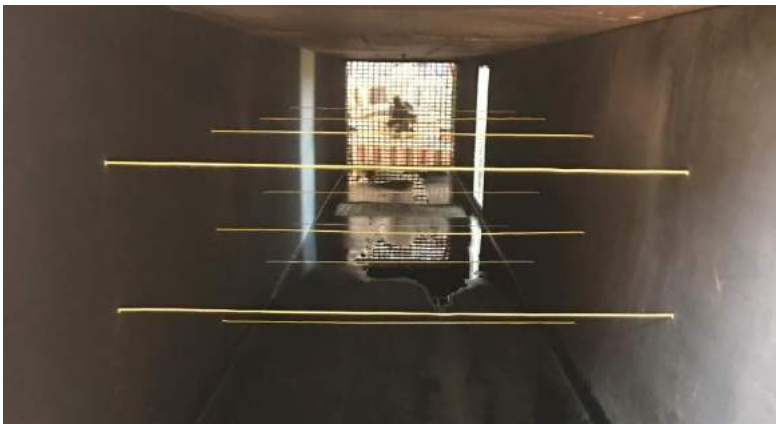
**Figura 1.** Túnel de vento construído para avaliação da deriva no Laboratório de Mecanização Agrícola da Universidade Federal de Viçosa *Campus* Rio Paranaíba - MG.



**Figura 2.** Detalhe do posicionamento do ventilador, das telas, da comeia, da ponta de pulverização e do depósito para armazenar a calda pulverizada no interior do túnel de vento.

Sob o local de pulverização na estrutura do túnel, é necessário um depósito para armazenar a calda pulverizada (Figura 2). Sobre ele, é colocada uma tela de nylon tensionada para evitar que as gotas depositadas em seu interior retornem para o túnel de vento e interfiram na determinação da deriva.

Durante as avaliações de deriva é adicionado à solução de aplicação um traçador que pode ser o corante azul brilhante alimentício (Moreira Junior & Antuniassi, 2010; Oliveira et al., 2013; Madureira et al., 2015; Oliveira et al., 2015) ou um sal como por exemplo o NaCl (Abi Saab, 1996; Gandolfo et al., 2012; Gandolfo et al., 2013; Rodrigues et al., 2015), para a quantificação da deriva produzida. A fim de detectar o deslocamento da calda pulverizada são posicionados transversalmente ao fluxo de ar no túnel de vento, fios coletores (Figura 3) de nylon de 2 mm de diâmetro (ISO, 2005).



**Figura 3.** Detalhe dos fios coletores posicionados no interior do túnel de vento.



Após a pulverização, os fios coletores são retirados do túnel de vento e, em seguida, acondicionados em sacos plásticos transparentes contendo 50 mL de água destilada e agitados por trinta segundos. A solução obtida é analisada em espectrofotômetro no caso da utilização do corante azul brilhante como traçador, ou em condutivímetro se o traçador for o NaCl. A quantidade do traçador detectada nos fios é transformada em porcentagem em relação ao total que estava contido na calda pulverizada no interior do túnel de vento. E assim, é calculado o percentual de calda que está sendo depositada por deriva no local onde está posicionado o fio coletor da respectiva amostra analisada.

Os estudos de deriva de agrotóxicos em túnel de vento são fundamentais para a quantificação do percentual do ingrediente ativo aplicado que pode ser perdido por deriva, conforme o equipamento de pulverização utilizado, a forma de aplicação, a solução de aplicada e as condições climáticas vigentes. Através, desses dados pode se obter informações e técnicas que possibilitam ao produtor rural corrigir uma série de erros, podendo assim, diminuir as contaminações do meio ambiente, aumentar a eficácia de suas aplicações e conseqüentemente, diminuir custos de produção.

### *Agradecimentos*

João de Deus Godinho Júnior agradece à pela bolsa de Mestrado.

## *Referências*

ABI SAAB, O.J.G. **Avaliação de um sistema de aplicação de defensivos utilizados em videiras no município de Londrina/PR.** Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP, p. 65, 1996.

ALVARENGA, C.B.; TEIXEIRA, M.M.; ZOLNIER, S.; SASAKI, R.S.; RINALDI, P.C.N. Controle automático do espectro de gotas de pulverizador hidropneumático em função do déficit de pressão de vapor d'água no ar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 26-33, 2013.

BOLLER, W.; RAETANO, C.G. Bicos e pontas de pulverização de energia hidráulica, regulagens e calibração de pulverizadores de barras. In: ANTUNIASI, U.R.; BOLLER, W. (Orgs.). **Tecnologia de aplicação para culturas anuais.** Passo Fundo – RS: Aldeia Norte, 2011. p. 51-80.

CARBONARI, C.A.; MARTINS, D.; MARCHI, S.R.; CARDOSO, L.R. Efeito de surfactantes e pontas de pulverização na deposição de calda de pulverização em plantas de grama-seda. **Planta Daninha**, v. 23, p. 725-729, 2005.

CHECHETTO, R.G.; ANTUNIASI, U.R.; MOTA, A.A.B.; CARVALHO, F.K.; SILVA A.C.A.; VILELA, C.M. Influência de pontas de pulverização e adjuvantes no potencial de redução de deriva em túnel de vento. **Semina**, v. 34, p. 37-46, 2013.

COSTA, A.G.F.; VELINI, E.D.; ROSSI, C.V.S.; CORRÊA, M.R.; NEGRISOLI, E.; FIORINI, M.V.; SIONO, L.M. Adjuvantes na deriva de 2,4-D + glyphosate em condições de campo. **Ciência Rural**, v.44, p. 387-392, 2014.

CUNHA, J.P.A.R. Simulação da deriva de agrotóxicos em diferentes métodos de aplicação. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, p. 487-493, 2008.

CUNHA, J.P.A.R.; BUENO, M.R.; FERREIRA, M.C. Espectro de gotas de pontas de pulverização com adjuvantes de uso agrícola. **Planta Daninha**, v. 28, p. 1153-1158, 2010.

DELLAMATRICE, P.M.; MONTEIRO, R.T.R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 1296-1301, 2014.

FERNANDES, A.P.; PARREIRA, R.S.; FERREIRA, M.C.; ROMANI, G.N. Caracterização do perfil de deposição e do diâmetro de gotas e otimização do espaçamento entre bicos na barra de pulverização. **Engenharia Agrícola**, v. 27, p. 728-733, 2007.

FERREIRA, M.C.; LOHMANN, T.R.; CAMPOS, A.P.; VIEL, S.R.; FIGUEIREDO, A. Distribuição volumétrica e diâmetro de gotas de pontas de pulverização de energia hidráulica para controle de corda-de-viola. **Planta Daninha**, v. 29, p. 697-705, 2011.

GANDOLFO, M.A.; MORAES, E.D.; GANDOLFO, U.D.; OSIPE, J.B.; RODRIGUES, E.B.; OSIPE, R. Potencial de deriva da mistura de 2,4-D com glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, p. 332-338, 2012.

GANDOLFO, M.A.; CHECHETTO, R.G.; CARVALHO, F.K.; GANDOLFO, U.D.; MORAES, E.D. Influência de pontas de pulverização e adjuvantes na deriva em caldas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 474-480, 2013.

GANDOLFO, M.A.; CHECHETTO, R.G.; CARVALHO, F.K.; GANDOLFO, U.D.; MORAES, E.D. Effect of working pressure at different spray nozzles on drift quantification in wind tunnel. **Engenharia Agrícola**, v. 34, p.66-73, 2014.

GULER, H.; ZHU, H.; OZKAN, H.E.; DERKSEN, R.C.; YU, Y.; KRAUSE, C.R. Spray characteristics and drift reduction potential with air induction and conventional flat-fan nozzles. **Transactions of the ASABE**, v. 50, p. 745-754, 2007.

IOST, C.A.R.; RAETANO, C.G. Tensão superficial dinâmica e ângulo de contato de soluções aquosas com surfactantes em superfícies artificiais e naturais. **Engenharia Agrícola**, v. 30, p. 670-680, 2010.

ISO - International Organization for Standardization. **Equipment for crop protection, ISO standars 5682/1/1981**. Geneva: ISO, p. 358-371, 1986.

JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.A.; QUEIROZ, S.C.N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - Um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, p. 996-1012, 2009.

MADUREIRA, R.P.; RAETANO, C.G.; CAVALIERI, J.D. Interação pontas-adjuvantes na estimativa do risco potencial de deriva de pulverizações. **Revista**

**Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 180-185, 2015.

MATUO, T. Fundamentos da tecnologia de aplicação de agrotóxicos. In: Tecnologia e Segurança Na Aplicação De Agrotóxicos: Novas Tecnologias, 2., 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Departamento de Defesa Fitossanitária; Sociedade de Agronomia de Santa Maria, p. 95-101. 1998.

MILLER, P.C.H. Reducing the risk of drift from boom sprayers. In: RAETANO, C.G.; ANTUNIASSI, U.R. (Eds). **Qualidade em tecnologia de aplicação**. Botucatu: Fepaf, 2004. p.110-124.

MOREIRA JÚNIOR, O. **Construção e validação de um túnel de vento para ensaios de estimativa da deriva em pulverizações agrícolas**. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP, p. 72. 2009.

MOREIRA JUNIOR, O.; ANTUNIASSI, U.R. Construção e validação de um túnel de vento para ensaios da estimativa da deriva em pulverizações agrícolas. **Energia na Agricultura**, v. 25, p. 118-136, 2010.

NASCIMENTO, A.; OLIVEIRA, G.; BALAN, M.; HIGASHIBARA, L.; ABI SAAB, O. Deposição de glifosato e utilização de adjuvante para diferentes pontas de pulverização e horário de aplicação. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 5, p. 105-116, 2012.

NUYTENS, D.; BAETENS, K.; DE SCHAMPHELEIRE, M.; SONCK, B. Effect of nozzle type,

size and pressure on spray droplet characteristics. **Biosystems Engineering**, v. 97, p. 333-345, 2007.

OLIVEIRA, R.B.; ANTUNIASSI, U.R.; MOTA, A.A.B.; CHECHETTO, R.G. Potential of adjuvants to reduce drift in agricultural spraying. **Engenharia Agrícola**, v. 33, p. 986-992, 2013.

OLIVEIRA, R.B.; ANTUNIASSI, U.R.; GANDOLFO, M. A. Spray adjuvant characteristics affecting agricultural spraying drift. **Engenharia Agrícola**, v. 35, p. 109-116, 2015.

PARRÓN, T.; REQUENA, M.; HERNÁNDEZ, A.F.; ALARCÓN, R. Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems. **Toxicology Letters**, v. 230, p. 157-165, 2014.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. Londrina: Edição dos Autores. 2011. 697 p.

RODRIGUES, E.B.; ABI-SAAB, O.J.G.; GANDOLFO, M.A.; OLIVEIRA, R.B.; HASEGAWA, M.M. Deriva de equipamentos costais na aplicação de glyphosate. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 1012-1017, 2015.

ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIBEIRO, M.C.F. LUIZ, A.R.M. Influência do orvalho e volume de calda de aplicação na eficácia do glyphosate na dessecação de *Brachiaria plantaginea*. **Planta Daninha**, v. 22, p. 479-482, 2004.

SHIRATSUCHI, L.S.; FONTES, J.R.A. **Tecnologia de aplicação de herbicidas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 2002. 30 p.

SOUZA, L.A.; CUNHA, J.P.A.R.; PAVANIN, L.A. Eficácia e perda do herbicida 2,4-d amina aplicado

com diferentes volumes de calda e pontas de pulverização. **Planta Daninha**, v. 29, p. 1149-1156, 2011.

SPANOGHE, P.; SCHAMPHELEIRE, M.; MEEREN, P.V.; STEUBAUT, W. Influence of agricultural adjuvants on droplet spectra. **Pest Management Science**, v. 63, p. 4-16, 2007.

STANISLAVSKI, W.M.; ANTUNIASSI, U.R.; CHECHETTO, R.G. Air flow humidification for air-assisted boom sprayer. **Engenharia Agrícola**, v. 34, p. 48-56, 2014.

VALLET, A.; TINET, C. Characteristics of droplets from single and twin jet air induction nozzles: A preliminary investigation. **Crop Protection**, v. 48, p. 63-68, 2013.

VIANA, R.G.; FERREIRA, L.R.; TEIXEIRA, M.M.; CECON, P.R.; FREITAS, F.C.L.; QUIRINO, A.L.S.; SANTOS, M.V. Características técnicas de pontas de pulverização LA-1JC e SR-1. **Planta Daninha**, v. 25, p. 211-218, 2007.

VILELA, C.M.; ANTUNIASSI, U.R. Evaporação de gotas de caldas contendo fungicidas e adjuvantes depositadas em superfície. **Engenharia Agrícola**, v. 28, p. 65-73, 2013.





CAPÍTULO

# 10

## **ACELERANDO EMPRESAS DE TECNOLOGIA (STARTUPS) EM MINAS GERAIS**

**Arthur Silva** <sup>(1)</sup>

**Jéssica Carvalho** <sup>(1)</sup>

**Lucas Ferreira** <sup>(1)</sup>

**Luiz C. M. Costa** <sup>(1)</sup>

**Maria Paula Duarte** <sup>(1)</sup>

**Priscila Souza** <sup>(1)</sup>

**Rochel M. Lago** <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Projeto INCT Midas, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: rochel@ufmg.br

### *Resumo*

Vocês professores, pesquisadores e alunos de universidades que estão envolvidos com pesquisa na área tecnológica já pensaram em abrir uma empresa e não sabem por onde começar? Neste capítulo, vamos apresentar de forma bastante simplificada algumas das iniciativas voltadas para o apoio, fomento e aceleração de *startups* tecnológicas, especialmente no ecossistema empreendedor de Minas Gerais.

## *O que é uma Startup?*

*Startups* são empresas recém-criadas com alto potencial de rentabilidade e tem foco em tecnologia e atividades inovadoras no mercado, com modelo de negócio altamente lucrativo e escalável, ou seja, que possa crescer fortemente. O termo “startup” começou a ser utilizado no final da década de 1990, especialmente Vale do Silício (*Silicon Valley*) na Califórnia, onde surgiram empresas muito bem conhecidas hoje, tais como Apple, Microsoft, Google, Facebook, Yahoo, entre outras. Essas empresas, frequentemente, nascem dentro de Universidades a partir de seus estudantes, professores e suas pesquisas e são chamadas de “*Spinoffs acadêmicas*” (Araújo et al., 2005b).

## *A importância das universidades no desenvolvimento econômico do Brasil e na criação de startups*

As universidades do Brasil e do mundo estão passando por uma “segunda revolução”, onde o desenvolvimento social e econômico é incorporado como parte da missão da universidade. A primeira revolução foi feita quando, além do ensino, a pesquisa passou a ser parte da universidade. Agora, a universidade integra o desenvolvimento econômico e social como uma função adicional e tem sido

A Química na Produção Vegetal

chamada “Universidade Empreendedora” (Araújo et al., 2005a; Lago et al., 2011).

### *Contexto atual no Brasil para o Empreendedor: Crise ou Oportunidade?*

O momento atual da economia brasileira é crítico. Recessão, desemprego, instabilidade política são alguns dos problemas que assolam nossa sociedade atual. E muitos veem o empreendedorismo e a inovação como uma forma eficaz de sobreviver e vencer momentos como o que vivemos hoje. De fato, pesquisa realizada pela empresa de consultoria UNITFOUR, mostra que o número de empresas abertas em 2016 cresceu 20% em comparação a 2015 (Brasil Econômico, 2017). Dados da Global Entrepreneurship Monitor e divulgados pelo SEBRAE mostram que cerca 36% dos brasileiros em idade economicamente ativa estão envolvidos com atividades empreendedoras (Taxa Total de Empreendedores) e 17% envolvidos em negócios estabelecidos (Taxa de Empreendedorismo Estabelecido). As *startups* são responsáveis por parte considerável desse movimento.

### *Contexto empreendedor no Brasil atual*

Tão importante quanto uma ideia de negócio é o contexto em que essa história é construída. Um país mais empreendedor não se faz apenas com empreendedores preparados e competentes. É preciso

criar as condições certas e desenvolver um ambiente de negócios que encoraje o crescimento e a inovação. O ecossistema empreendedor brasileiro – das cidades às universidades – apresentam os caminhos e obstáculos que precisamos superar para que os empreendedores cresçam sem barreiras ou amarras – e possam, assim, protagonizar a transformação do Brasil. Atualmente, são investidos mais de 170 milhões de reais em *startups* no Brasil. Essas empresas obtiveram mais de 15 bilhões de reais de faturamento, com o apoio de 369 incubadoras espalhadas pelo país. O cenário está cada vez mais incentivador e propício para a criação de novas empresas, apoiando a mudança de mentalidade das pessoas e das universidades. As universidades são protagonistas e tem papel transformador. As pesquisas dentro das instituições estão começando a ganhar uma nova cara. Alguns professores começaram a desenvolver tecnologias inovadoras que resolvam, de fato, problemas da sociedade, levando a ela novas soluções que melhoram a qualidade de vida das pessoas. Essas pesquisas recebem apoio de unidades de fomento, como FAPEMIG, e empresas privadas, como a Coca Cola, para que empresas inovadoras apareçam gerando milhares de empregos no caminho. Cerca de 40% dos adultos estão envolvidos com empreendedorismo e passaram a investir tempo, recursos e ideias em propósitos. O objetivo dessas pessoas não é mais ser contratado por uma multinacional, formar carreira e ganhar uma bonificação por dedicação ao final da vida. Os

empreendedores entendem que têm uma função social essencial para um mundo melhor. O indicativo sucesso não é mais a quantidade de dinheiro que você ganha e sim a quantidade de vidas que você transforma. Com uma boa sacada e muito trabalho, eles começaram a pensar a vida e os negócios "fora da caixa".

### *Ecosistema mineiro*

Minas Gerais é segundo maior ecossistema de *startups* do país, com cerca de 400 empresas. Somam-se a este número, seis parques tecnológicos e seis institutos tecnológicos públicos, mais de 23 incubadoras distribuídas em 16 cidades, além de ser o estado com mais universidades públicas do Brasil, que promovem boa formação e investimento em pesquisa e desenvolvimento. Além disso, conta com o San Pedro Valley, comunidade de empreendedores que é referência para negócios de base tecnológica no país e no mundo, além dos clusters de Santa Rita do Sapucaí (Revista Fonte, 2017). Além disso, *startups* mineiras são destaques em rankings como 100 *Startups* e em eventos como Startup Games e Olimpíadas de Startups, dentre outros.

Dentro deste ecossistema, as iniciativas de fomento e aceleração de *startups* ocupam papel central, tanto pelo seu caráter de incentivo e criação de novas empresa quanto pela formação de profissionais e a disseminação da cultura empreendedora.

## A Química na Produção Vegetal

A seguir, estão algumas das iniciativas empreendedoras mais significativas de Minas Gerais são apresentadas.

- Startup Weekend
- Startup U
- BioStartup Lab - BLS
- FiemgLab
- MinningLab
- Lemonade
- SEED
- PII



*“Em apenas 54 horas, você experimentará os altos e baixos, a diversão e a pressão que compõem a vida em uma startup”.*

A frase acima é parte do texto que abre o site do Startup Weekend, uma organização sem fins lucrativos com base em Seattle, Estados Unidos.

Os eventos do Startup Weekend (SW) nasceram para proporcionar a experiência empreendedora prática, onde são fomentadas ideias de inovação em um tempo predeterminado. São eventos que dão oportunidade aos empreendedores, investidores, desenvolvedores, designers, profissionais de marketing e entusiastas de reunir-se, compartilhar,

maturar e validar suas ideias, formar times e criar *startups*. Eles reúnem pessoas de diversas áreas como engenharia, design, marketing e negócios e que têm um propósito em comum: criar um projeto inovador. Os participantes que já possuem ideias apresentam aos demais, formam times e trabalham juntos intensamente para lançar uma *startup* em 54 horas. O SW acontece em um final de semana total de imersão no conteúdo. Conta ainda com a atuação de mentores que auxiliam as equipes na modelagem do negócio proposto para se criar uma empresa e na cultura *startup* onde a colaboração tem papel fundamental para a vida em comunidade. Em apenas 54 horas, o SW proporciona experiências comuns na vida de um empreendedor como altos, baixos, diversão e pressão, cercado das melhores ferramentas e abordagens para você dar grandes passos em direção à criação de um negócio - conecta pessoas apaixonadas a recursos adequados. Até 2017 foram mais de 23 mil times formados, mais de 193 mil pessoas impactadas em mais de 3 mil eventos. O SW está em mais de 150 países (mais do que o Starbucks!).

Esta é uma descrição dos eventos de um Startup Weekend:

*Sexta-feira – O que vai acontecer?*

O evento começa no final da tarde de sexta-feira, com todo mundo se juntando para ouvir uma palestra motivacional relacionada ao tema de *startups*. Em seguida, as pessoas que tem uma ideia têm 60 segundos para apresentá-la e convencer o restante a formar uma equipe para trabalhar nela durante os

outros dias. Os participantes se organizam em times em volta das ideias escolhidas. Por hoje é só: a maioria dos grupos vai para casa descansar. Às vezes, uma ou outra turma resolve já arregaçar as mangas e começar a trabalhar (sim, às 23 horas).

*Sábado – O dia do trabalho*

No sábado, os trabalhos começam às 8 horas, quando a organização geralmente oferece um café da manhã para os participantes. A partir disso, os grupos começam a transformar aquela ideia de sexta-feira em um negócio, respondendo algumas perguntas importantes de uma ferramenta chamada "Canvas". Os organizadores do evento realizam um workshop sobre o Canvas a ser utilizado e explicam como o modelo de negócio deve ser construído a partir de questionamentos como: "Qual é o problema que queremos resolver?", "Quem sente a dor?" e "Temos uma solução que atenda a necessidade dessas pessoas?". A organização do evento seleciona um grupo de mentores de acordo com o perfil do evento e essa turma se reveza passando de grupo em grupo para ajudar os integrantes a desenvolverem o projeto. Os mentores estão ali para questionar, tirar as equipes da zona de conforto e expor o seu modelo de negócios. E, quase sempre, dói. E este é um dos grandes benefícios do Startup Weekend: aprender a questionar a sua própria ideia e levantar da cadeira para ir à rua e falar com seus potenciais clientes. A verdade está lá fora. É hora de conversar com os potenciais clientes, parceiros, técnicos e pessoas influentes que possam validar seu modelo de negócio.



O evento acaba por volta de 18 horas, mas a maioria das equipes continua trabalhando e, muitas vezes, viram a noite para encontrar as respostas.

*Domingo – A hora da verdade*

O dia começa com treinamento de *pitch* para os grupos começarem a preparar a sua apresentação final. *Pitch* é uma apresentação cujo objetivo é despertar interesse de outras pessoas sobre sua *startup* (projeto ou ideia), projeto ou ideia para isso devem ser selecionadas as informações corretas e que comprovem que o seu negócio pode gerar renda e impactar as pessoas. A montagem, estruturação e treinamento das apresentações se intensifica depois do almoço e os representantes de cada grupo ganham alguns minutos com alguns mentores para treinar e receber *feedback* sobre a sua apresentação. Os grupos devem entregar as apresentações geralmente às 17 horas e, logo após, começam as apresentações finais. Cada grupo tem de 3 a 5 minutos para apresentar a sua *startup*, qual o problema que ela resolve, como ela o resolve, quem são seus clientes, qual o tamanho do mercado e como eles pretendem ganhar dinheiro com a operação. É aí que entra outro ator no evento: a banca de avaliação. Eles não participam do evento, chegam só para ouvir as apresentações. Após as apresentações, a banca se reúne e decide os vencedores. Os vencedores ganham prêmios oferecidos pelos patrocinadores e apoiadores do evento, além de exposição na mídia e um “selo” de que, pelo menos entre os grupos participantes, tem

boas chances de criar um negócio que funcione. O evento termina perto das 21 horas.

Uma das características mais legais do SW é que ele é organizado por voluntários. Estão presentes pessoas apaixonadas por empreendedorismo e que querem impactar outras. Os organizadores, mentores, avaliadores estão ali para ajudar, compartilhar experiências e disseminar a cultura empreendedora pelo mundo. Assim, cria-se um ambiente ideal de motivação, aprendizado, troca de ideias e crescimento - pontos fundamentais para o sucesso. Uma *startup* de sucesso que surgiu do SW é a Easy Taxi.

#### **STARTUP U**



O Startup U é uma temporada de construção e desenvolvimento de negócios de impacto realizado pelo Núcleo UFMG Júnior, instância que representa e conecta as empresas juniores da UFMG. O objetivo do Núcleo é transformar as ideias e pesquisas acadêmicas de universidades de Belo Horizonte em *startups*. O Startup U acontece por meio de cinco etapas: palestras, *meetups*, *weekend* e pré-aceleração, a fim de transformar o conhecimento das universidades. O público-alvo do programa são empreendedores de primeira viagem, graduandos ou recém graduados, com o foco de desenvolver negócios em estágio inicial – de ideias a protótipos ou pesquisa.

*Primeira Fase: Palestras*

Os organizadores do Startup U promovem palestras sobre o tema relacionado à temporada e temas relacionados ao empreendedorismo e o ecossistema atual. A primeira divulgação do evento ocorre nessa fase e o objetivo é que os interessados em participar do programa se conheçam, compartilhem ideias e comecem a formar equipes em volta de ideias inovadoras. São convidados palestrantes experientes do meio empreendedor e *startups* que possam dar dicas e incentivar as pessoas a empreender.

*Segunda Fase: Meetups*

Agora, os *meetups* aparecem! São encontros informais, que acontecem em sua maioria em bares ou *coworking*, onde o objetivo é promover conversas e *networking*. Nessa fase, o principal objetivo é formar as equipes complementares que se inscreverão para participar com sua ideia das próximas fases da temporada. Esses encontros são parecidos com os famosos *happy hours*, que conectam pessoas que possuem alguma ideia com pessoas capacitadas para ajudar a desenvolvê-la e que querem se tornar empreendedores. Por exemplo: Você teve uma ideia de criar um aplicativo para *delivery* de picolé, mas não sabe programar um. Nesse evento você conhece programadores e os convence de abrir uma *startup* com você.

*Terceira Fase: Weekend Startup U*

O Weekend é um final de semana de imersão, para que os selecionados tenham o primeiro contato

com os conteúdos, ferramentas e comecem a desenvolver a primeira ideia do modelo de negócio. As equipes passam o final de semana inteiro trabalhando em conteúdos, como *canvas* e *pitch*, e imersos em validações para desenvolver o melhor modelo de negócios para as ideias. O Weekend conta com workshops de convidados do ecossistema empreendedor e de mentores que auxiliam o tempo todo todas as equipes. No domingo, ocorrem as apresentações do trabalho feito durante o final de semana, por meio de um *pitch*. As melhores equipes são selecionadas para participarem da quarta fase - a pré-aceleração. A seleção ocorre a partir da avaliação de uma banca que conta com investidores, equipe organizadora da temporada e agentes de programas, como o BioStartup Lab, Lemonade e Seed.

### *Quarta Fase: Pré-aceleração*

Nessa etapa, as melhores equipes foram selecionadas e agora recebem conteúdos mais aprofundados, mentorias e capacitação de perto. Mas é a hora de começarem a caminhar sozinhos! Durante algumas semanas, elas aprofundam as pesquisas em validações e projeções financeiras. O programa conta com apoio de um time de mentores experientes que, ao longo das semanas, auxiliam as equipes em temas como: desenvolvimento de produto, proposta de valor, validação de mercado, *pitch*, modelo de negócios, marketing, entre outros. Nessa fase é onde ocorre o maior amadurecimento da equipe e o desenvolvimento dos empreendedores. Aqui eles tem

maior contato com o ecossistema e empreendedores mais conceituados.

*Quinta Fase: DemoDay*

A quinta e última fase é o "DemoDay", que consiste em uma feira de exposição das *startups* pré-aceleradas e da apresentação do *pitch* das melhores equipes que foram pré-aceleradas para empreendedores, parceiros, investidores e avaliadores. Assim, as equipes que mais se destacaram, mostrando maior comprometimento e crescimento ao longo das semanas, são premiadas. Após o Startup U, as equipes já tiveram o primeiro contato e encontram-se preparadas para se desenvolverem cada vez mais sua *startup*. Algumas equipes são encaminhadas para outros programas, como por exemplo, BioStartup Lab, Lemonade, entre outros. Os próprios programas, após assistirem os *pitches*, escolhem as equipes que querem premiar, oferecendo uma vaga para participarem do programa.

**BIOSTARTUP LAB**



O BioStartup Lab (BSL) é um programa de pré-aceleração de ideias/*startups*/projetos, com lançamento em 2016, que trabalha o comportamento e desenvolvimento empreendedor. Um de seus diferenciais em relação aos outros programas é o foco nas áreas de ciências da vida: saúde humana,

agronegócio/saúde animal, meio ambiente e *digital health*. Ele é realizado através da parceria entre a Fundação Biominas Brasil, SEBRAE-MG e a Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Estado de Minas Gerais (SEDECTES).

Com o propósito de construir e apoiar uma nova geração de empreendedores no setor de ciências da vida, o BioStartup Lab inicia cada rodada do programa com 21 equipes (de duas ou mais pessoas). Elas convivem de 10 a 12 semanas em um ambiente descontraído e inovador, chamado de *coworking* - uma sala com mesas compartilhadas, onde todos trabalham juntos e compartilham experiências e dúvidas. O formato adotado por eles na metodologia de pré-aceleração engloba capacitação dos empreendedores, modelagem de negócios e ambiente competitivo. Isso tudo é abordado através de metodologias e ferramentas específicas para a área de ciências da vida, no formato que é denominado *handson*, no qual os empreendedores devem tomar frente para desenvolver o modelo de negócios, validar hipóteses, montar apresentações e apresentar diante de bancas de avaliadores. Para que tudo isso seja executado, os empreendedores contam com alguns benefícios, como: suporte de especialistas das áreas, mentores, grandes empresas, investidores e parceiros.

Para entrar no programa, inicialmente preenche-se um formulário na página da Fundacity, com os dados da ideia/projeto/*startup* e dos integrantes. Essas informações são analisadas pela

equipe do BSL e as selecionadas entram na segunda e última fase, que se trata de uma conversa com as equipes selecionadas (presencial ou a distância) para sanar algumas dúvidas. A partir disso, a equipe do BSL seleciona 21 equipes que compõe a rodada do programa.

A metodologia aplicada é dividida em quatro fases: *team selection*, *biobusiness model*, *labs* e *demoday*. Na primeira fase são selecionadas equipes em fases alfa (ideia), beta (piloto, teste) e *started* (fase comercial). Após a seleção, as equipes entram no programa (fase *biobusiness model*) e imergem em um ambiente empreendedor e competitivo para desenvolver seu modelo de negócios, definir soluções, estudar modelos de comercialização, encontrar mercado/usuários e desenvolver novas habilidades. No fim dessa fase, as equipes apresentam os resultados através de um *pitch* no evento chamado *Roundtable*, no qual somente 15 equipes permanecem no programa e vão para a próxima fase (*labs*). Ao entrarem na fase *labs*, os times validam hipóteses e desenvolvem o *pitchpaper* (modelo de negócios simplificado, de duas a quatro páginas e que aborda os pontos críticos de um negócio nascente baseado no *Lean Canvas*) com o suporte de um mentor. No fim dessa fase, elas apresentam os resultados no segundo *Roundtable* e são selecionadas (somente 10 equipes) para o *pitch* final no *Demoday*. O *Demoday* é o evento mais esperado do programa, pois além de englobar a apresentação final das equipes selecionadas, ele conecta as *startups* com investidores em potencial,

especialistas e parceiros através de uma feira de exposição das *startups*. Esse evento geralmente ocorre no SEBRAE-MG e é dividido em duas partes, no início do evento acontece a feira de exposição de todas as *startups* da fase *labs* (utiliza-se estandes) e, na segunda etapa, 10 finalistas apresentam o *pitch* final, elegendo-se a equipe vencedora da rodada.

O programa não oferece recursos financeiros para os ganhadores, mas em cada edição são disponibilizadas diversas premiações para os campeões. Na primeira rodada, os ganhadores receberam até R\$200.000,00 em recursos econômicos, como apoio da BIOMINAS e acesso a recursos do SEBRAETec. Já na segunda, o BSL ofereceu uma vaga na aceleradora de empresas (GrowBio) da BIOMINAS Brasil para a equipe campeã. Diferentemente das rodadas anteriores, os vencedores da terceira edição do programa foram contemplados com o acesso à última fase de seleção do Edital SESI SENAI de Inovação, com possibilidade até R\$ 200.000,00 em recursos econômicos dos laboratórios do SENAI.

Ao longo das três rodadas, o BSL contou com 1561 inscritos, 390 *startups* avaliadas, 84 *startups* impulsionadas e mais de 220 instituições de ensino e pesquisa envolvidas nas inscrições, entre elas, UFMG, USP e Stanford University.

Alguns *startups* se destacaram nessas rodadas por interagirem mais fortemente com empresas ou iniciar as vendas. Destaca-se a Arkmeds, que participou da primeira rodada do programa e atualmente é parceira da Unimed BH. Essa *startup*



## A Química na Produção Vegetal

produz um dispositivo e conjunto de sensores que, conectado aos aparelhos hospitalares, permite a produção de dados para a precisão, monitoramento da qualidade e manutenção corretiva.

**FIEMG LAB**

**FIEMGlab.**  
NOVOS NEGÓCIOS

O FIEMG Lab Novos Negócios é um programa de aceleração de *startups* de longa duração, cerca de 18 meses, que conecta as *startups* com a indústria mineira, para que juntas, troquem experiências e gerem soluções para a sociedade. Para a realização do programa, a FIEMG (Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais) contou com parceiros essenciais como a FAPEMIG, SEBRAE, CNI, Grupo BMG e SEDECTES. Esse programa abrange diferentes áreas como; logística, saúde, internet das coisas, agronegócio e ambiental, gestão de empresas e financeira, educação, construção civil e indústria, alimentos e bebidas, segurança, entre outros. Além disso, ele fornece diversos benefícios para os participantes (chamados de *rockets*) que se diferem dos outros programas do ecossistema.

Cada equipe recebe incentivo financeiro através de uma bolsa de auxílio de cerca de R\$ 1.500,00, paga pela FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) a um integrante da *startup*

que possua graduação completa, além de acesso ao laboratório aberto do SENAI e consultorias tecnológicas do SEBRAE. Além disso, os participantes possuem abertura na entrada do hub de inovação no espaço Atmosphera, um *coworking* que abriga *startups*, escritório, sala de reuniões e café. Outro benefício do programa são os serviços de computação e de parceiros essenciais para *startups* e conexão com a Universidade da Califórnia. Em relação as similaridades com outros programas de pré-aceleração, o FIEMG Lab Novos Negócios também oferece capacitação na área de educação empreendedora, englobando palestras, mentorias, conexões, conversas com investidores e potenciais clientes e workshops.

O programa encontra-se na sua primeira edição, na qual foram selecionados 100 *startups* para entrarem na rodada. A seleção dessas *startups* foi realizada de forma online (formulário) e presencial (envio de vídeos com *pitch* das tecnologias e da equipe) pela plataforma Fundacity. A partir de uma série de perguntas, vídeos e apresentações requisitadas na inscrição, diversos avaliadores analisam os seguintes aspectos: Equipe (histórico, multidisciplinaridade, complementaridade, capacidade técnica, capacidade relacional); Tecnologia/Produto (grau de inovação, estágio, viabilidade técnica e econômica); Negócio (modelo de negócio, proposta de valor, potencial de faturamento, crescimento global, histórico de aceleração) e Potencial de impacto

(impacto do projeto para o FIEMG Lab e impacto do projeto para a indústria mineira).

Foram realizadas 1016 avaliações de 408 projetos habilitados para participar do edital e, desses, 150 foram selecionados para uma entrevista online, para chegar aos 100 selecionados.

O programa é dividido em quatro fases, com seleção das equipes mais pontuadas em cada etapa. A primeira fase teve duração de 2 meses, em que as 100 *startups* selecionadas participaram de atividades de orientação para o amadurecimento do time e do modelo de negócios, incluindo mentorias, palestras e conexões com indústria e investidores. No fim dessa fase, apenas 35 equipes foram selecionadas para a próxima etapa, que consiste na evolução do modelo de negócios, prototipagem e validação de mercado, com duração de seis meses. Nessa fase, o acompanhamento dos agentes de aceleração para com as equipes é mais intenso, mas isso não exclui o envolvimento das *startups* eliminadas em alguns benefícios do programa. Essas equipes possuem liberdade de participar dos eventos do programa, utilizar o *coworking*, compondo o ecossistema do programa.

A seleção dos 35 projetos que foram para segunda fase ocorreu através da distribuição de até 100 pontos para as *startups*, que foram divididos em duas partes. A primeira parte dos pontos foi distribuído pela equipe FIEMG Lab, que avaliou a performance da *startup* em relação às metas, o potencial de crescimento e internacionalização, a

colaboração da *startup* para o programa e vice-versa, atitude e comprometimento da equipe em relação à *startup* e ao programa. A outra parte da pontuação foi dada por uma banca de avaliadores, onde foram analisadas o *pitch* de todas as *startups* (5 minutos para cada). Essa banca foi formada por pessoas da área de atuação das *startups*, investidores, empreendedores já consolidados e especialistas. Além dessa pontuação, distribuiu-se pontuação extra (até 5 pontos) para as *startups* que auxiliaram o ecossistema de alguma forma, trazendo ou oferecendo palestras, mentorias, ou algum outro tipo de benefício.

Para entrar na fase 3 são selecionadas 15 *startups*, onde serão testados repetitividade e escalabilidade do negócio, posicionamento de mercado, estratégias de venda e planejamento financeiro durante quatro meses. Além disso, todas as equipes dessa fase recebem aporte financeiro entre R\$ 50 mil e R\$ 100 mil do BMG UPTech (investidor), registro de marca e proteção intelectual, além de mentoria em gestão de inovação. A fase final tem duração de seis meses e participam somente as cinco equipes selecionadas no fim da fase anterior, que serão contempladas com suporte para desenvolver as estratégias tecnológicas e de mercado. O objetivo é transformá-las em grandes *cases* e dar visibilidade internacional aos resultados alcançados no programa.

*As atividades realizadas no programa podem ser descritas:*

1 - Reuniões individuais: onde são tratados assuntos específicos da *startup*, acompanhamento de resultados, traçadas metas, levantadas dificuldades, etc. Essas reuniões ocorrem semanalmente e são obrigatórias (na primeira fase ela ocorreu de acordo com a necessidade da *startup*, não sendo obrigatória);

2 - Reuniões em grupo: periodicamente, um grupo de *startups* se reúne junto a um moderador para discussão de temas transversais variados, compartilhar experiências e discussões gerais. Atualmente, essas reuniões ocorrem quinzenalmente, mas na primeira fase ela ocorreu semanalmente e era uma atividade obrigatória para as 100 *startups*;

3 - Mentorias e palestras: Semanalmente, mentores auxiliam as *startups* em assuntos específicos (marketing, vendas, investimentos, entre outros) de acordo com as demandas. Além disso, semanalmente ocorrem palestras de temas variados e transversais abertos a todo ecossistema;

4 - Conexões: A equipe do FIEMG Lab é focada em estabelecer conexões das *startups* com empresas, investidores, instituições, etc. São identificados as necessidades, a partir disso, eles estabelecem o contato, agendam uma reunião, e acompanham a evolução do contato;

5 - Experiência: O FIEMG Lab possui uma equipe específica para a experiência dos empreendedores, com a organização de eventos e *happy hours* rotineiros, além de garantir a boa convivência no espaço de *coworking*.

As atividades descritas também são realizadas por outros programas de pré-aceleração, mas o FIEMG Lab se destaca por ter como prioridade as conexões dos participantes com empresas, investidores e com o ecossistema.

Um dos aspectos interessantes desse programa é a conexão que as equipes conseguem com indústrias ou serviços que contribuem para desenvolvimento da *startup*. Essa estratégia de conexão, tanto interna entre os participantes quanto externa, são itens de importância na pontuação das equipes participantes.

Como a primeira rodada do FIEMG Lab ainda está em andamento (encontra-se na segunda fase), eles não possuem números de vendas/faturamento/investimento das *startups*. Entretanto, algumas *startups* se destacaram no programa durante essas fases. A SolarView, que já passou por outros programas de aceleração, está com crescimento considerável e grande potencial de se internacionalizar. A NuCont entrou no programa com equipe incompleta e sem o produto finalizado e, atualmente, estão com diversas pessoas no time, focando em realizar vendas e com metas audaciosas. Outro destaque é a Fastdezine, que foi investida ao

entrar no programa e já estabelecem grandes parcerias.

## LEMONADE



O Lemonade é hoje um dos maiores programas de pré-aceleração de *startups* do Brasil. É realizado pela Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa (FUNDEP) e pela FUNDEP Participações S.A (FUNDEPAR), com co-realização da empresa TechMall, SEBRAE, Governo de Minas Gerais, FAPEMIG e pelo Sistema Mineiro de Inovação (SIMI). Criado em 2015, atualmente está em sua nona edição, com realizações nas cidades de Belo Horizonte, Uberaba, Uberlândia, Patos de Minas e sua última edição em Brasília.

Já executado em diversos locais, como no próprio prédio do TechMall e no último andar do Parque Tecnológico BHTec, atualmente a sua nona edição, comemorativa em homenagem aos 90 anos da UFMG, acontece no prédio da Coordenadoria de Transferência e Inovação Tecnológica (CTIT) da UFMG. Sempre executado em um *coworking*, os ambientes utilizados são sempre confortáveis e disponíveis para utilização fora dos horários de treinamento, como para reuniões com mentores e possíveis clientes. Ao mesmo tempo, as equipes são encorajadas a saírem a campo, em busca do maior número de validações possíveis sobre o seu negócio.

O Lemonade, durante um período de cerca de um mês, abre inscrições para a submissão de equipes e seus projetos, sejam eles de base tecnológica ou não. O programa é conhecido por ser abrangente em seu portfólio de *startups*.

O processo de inscrição e seleção por programa envolve a submissão de um formulário online, com algumas prospecções de mercado e modelos de negócio possíveis para a sua ideia, além de uma etapa presencial de apresentação do projeto para uma banca, composta por membros da TechMall, instituições parceiras e investidores.

Uma das particularidades do Lemonade em relação a outros programas está no foco em características da equipe para participação no programa. No edital disponibilizado da nona edição, são dadas pontuações para equipes multidisciplinares e multi-institucionais, além de disponibilidade e experiência empreendedora da equipe.

Previamente à própria seleção e ao programa de pré-aceleração, são organizados eventos chamados "*meetups*". Esses encontros visam reunir pessoas interessadas em compor equipes. Normalmente acontecem no mês de submissão de projetos e cada um dos *meetups* possuem temas específicos, como "tenho uma ideia/tecnologia" ou "sou designer/desenvolvedor".

O programa utiliza uma metodologia chamada *Learn/Do/Show* (LDS), em que em todas as semanas os empreendedores assistem palestras sobre um tema específico da semana (Learn), possuem um tempo



determinado, propositalmente pequeno, para a execução e coleta de dados da tarefa da semana (Do) e todas as equipes devem apresentar os resultados para uma banca (Show). Além disso, durante todo o tempo de duração do programa, diversos mentores e empreendedores ficam disponíveis para serem consultados.

Durante cerca de 8 a 10 semanas, o programa proporciona aos participantes um ambiente imersivo, com constantes capacitações e mentorias aos empreendedores para que eles trabalhem na modelagem de negócios e validação de suas *startups*. É conhecido por constantemente instigar a competitividade entre os empreendedores, enquanto contribui para um ambiente colaborativo, baseado na filosofia do “*give first*”.

As oito semanas são divididas em duas etapas. A primeira contém cinco semanas focadas no desenvolvimento do modelo de negócio e sua validação, com temas como dor de mercado e *minimum viable product* (MVP). As equipes acumulam pontos pela execução de suas tarefas e apenas as melhores colocadas, entre 10 a 15 equipes, continuam no programa. As três semanas restantes se resumem no polimento do MVP, prospecções financeiras e estratégias de venda, culminando em um dia final de apresentações (*DemoDay*), em que as pontuações são somadas à de uma banca final no evento aberto ao público, composta de atores importantes do ecossistema de inovação e investidores.

## A Química na Produção Vegetal

Sozinho, o programa já acelerou mais de 200 *startups* e 800 empreendedores. De uma forma geral, além de visibilidade no ecossistema de *startups* e treinamentos, as *startups* mais bem colocadas podem ser investidas pela FUNDEPAR em até R\$40.000,00, por irrecusáveis 10% de participação das empresas em até dois anos.

Dentre as *startups* mais conhecidas estão a ResiduAll, atuando na inteligência da gestão de resíduos, e a Linkare, com a produção de braceletes próprios para o monitoramento de idosos. Ambas passaram, após o Lemonade, pelo programa de aceleração da TechMall, onde continuaram recebendo assistência e mentorias da aceleradora de *startups*.

### **MINING LAB: PROGRAMA VOTORANTIM PARA STARTUP**



O programa Mining Lab é uma iniciativa para a seleção e desenvolvimento de *startups* e projetos inovadores na área da mineração. Nasceu a partir de esforço conjunto da empresa Votorantim Metais, da Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais (FIEMG) e da aceleradora de *startups* TechMall. Tem como objetivo principal a pré-seleção e imersão de *startups* em problemas estabelecidos pela Votorantim Metais, resultando na construção de um projeto específico para solucionar tais problemas.

O grupo Votorantim é considerado um dos maiores conglomerados empresariais do Brasil, hoje

uma multinacional de controle familiar. Estão entre suas subsidiárias grandes empresas como Votorantim Cimentos, Gerdau, ArcelorMittal e a Votorantim Metais. Esta última, ao entender o potencial das *startups* de base tecnológica e das tendências em ecossistemas de inovação, decidiu então acionar a aceleradora TechMall para a criação do que hoje é o Mining Lab. Percebeu-se então um potencial de resolução de problemas tecnológicos e de produção da Votorantim Metais através do incentivo e investimento às *startups* do setor.

Através da procura e envolvimento da TechMall pela Votorantim Metais, foram levantadas diversas demandas de seu processo de mineração e beneficiamento de minérios. Assim, optou-se pela procura e seleção de *startups* capazes de fornecer soluções em nanotecnologia e em energias renováveis, denominados “desafios” pela organização do programa.

Ambos os desafios possuem aspectos relacionados à sustentabilidade de processos e da cadeia produtiva. As tecnologias inscritas em nanotecnologia, de acordo com o programa, devem ser voltadas à reutilização e recuperação de nanopartículas em diversas operações da mineração e beneficiamento, visto que são perdidas nanopartículas com alto valor agregado em todo o processo e grandes volumes de rejeito contendo zinco, cobre, chumbo e prata. Entram aqui reaproveitamento de efluentes e recuperação no processo de flotação.

O segundo desafio está relacionado ao fornecimento de energia através de fontes renováveis. Desde a otimização até a substituição completa de matrizes energéticas fósseis em todo o processo e cadeia produtiva. Como exemplos estão a utilização de energia solar, óleos menos poluentes e outras fontes ainda não mapeadas de energia.

A primeira edição do programa foi lançada no dia 11 de novembro de 2016 junto de seu regulamento de inscrição, abertas para a submissão de projetos e *startups* no programa, com encerramento das inscrições o dia 20 de janeiro. Ambos os desafios incluíam inscrições de projetos em fase de ideia, conceito, laboratório, piloto e produto pronto ao mercado.

As *startups* devem também ser capazes de oferecer projetos para a Votorantim com implementação e execução total de até um ano e meio. Além disso, foram avaliados critérios como o perfil empreendedor do time, capacidade de execução, dedicação ao negócio. Aspectos da tecnologia pareceram ter grande peso na escolha das *startups*, visto a existência de critérios como experiência no mercado, portfólio de clientes e serviços já prestados e alinhamento com a estratégia da Votorantim Metais  *Holding*.

Dos 115 projetos inscritos, foram selecionados 18 para passar pelo processo de imersão e intenso treinamento de 16 dias. Projetos de todo o Brasil foram selecionados para o processo de imersão na Votorantim Metais. Durante 16 dias, os

empreendedores e suas equipes foram desafiados a construir um *Business Case* específico para um projeto da Votorantim Metais, atacando algum dos problemas descritos nos desafios da empresa.

Esta imersão consistiu em diversos treinamentos que abrangem desde o *mindset* empreendedor até comunicação efetiva na apresentação de um projeto em formato de *pitch*, ministrados no TechMall, no CIT SENAI e no edifício da FIEMG em Belo Horizonte, sempre na presença de funcionários da Votorantim Metais. Alguns destes dias foram destinados à exposição dos processos da própria Votorantim para os empreendedores, visto que a visita técnica seria inviabilizada pela distância das minerações e beneficiamentos abordados, principalmente nas cidades de Morro Agudo e Vazante, situadas no noroeste de Minas Gerais, próximas a Paracatu.

### *Resultados e implementação*

No último dia, os empreendedores expuseram suas *startups* e tecnologias em estandes, previamente à apresentação de seus *business cases* para uma banca constituída por funcionários e membros das diretorias de produção e meio ambiente da Votorantim Metais. Cada empreendedor apresentou sua proposta de projeto à Votorantim seguindo o modelo de um *pitch*, adequando-se aos problemas expostos utilizando suas tecnologias, com necessidade de investimento

para execução e andamento da implementação de suas soluções.

Nesta primeira edição, dos cerca de 20 projetos selecionados para a imersão, apenas oito possuíam soluções passíveis de investimento financeiro para implementação nos 18 meses seguintes, de acordo com os critérios da Votorantim. Os valores de investimento são negociados com a Votorantim. Entre as *startups* estão a nChemi, com soluções em nanotecnologia na recuperação de íons metálicos no beneficiamento, e a BChem, fornecendo serviço de recolhimento de óleo de cozinha para produção de biodiesel nas cidades no arredor das minas para abastecimento da frota local da Votorantim Metais.

**SEED - STARTUPS AND  
ENTREPRENEURSHIP  
ECOSYSTEM DEVELOPMENT**



*“Uma fábrica da inovação em Minas Gerais!”*

O SEED é um programa de aceleração de *startups* para empreendedores do mundo todo que queiram desenvolver seus negócios em Minas Gerais. Este é o único programa de aceleração com recursos públicos do Brasil e tem como finalidade potencializar a interação, as redes e a transferência de conhecimento e habilidades entre empreendedores apoiados e o ecossistema local, para transformar

Minas Gerais no maior polo de empreendedorismo e inovação da América Latina.

Com financiamento do Governo de Minas Gerais e coordenado pela Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (SEDECTES), o SEED faz parte do Minas Digital, que é uma série de iniciativas governamentais, parcerias e rede de networking que buscam impulsionar o desenvolvimento de negócios e fortalecer a cultura empreendedora no Estado.

No programa de aceleração são selecionadas 40 *startups* por rodadas, que tem de dois a três empreendedores por time. Cada uma recebe um capital semente de R\$ 68 mil a R\$ 80 mil para fortalecerem os seus projetos por seis meses, que é o tempo de duração da aceleração. Entretanto, o programa exige que os empreendedores providenciem 5% do valor total das despesas como contrapartida mínima.

Para poder participar do programa, as *startups* de qualquer parte do mundo devem se inscrever por meio de um Edital de Chamamento Público do SEED – *Startups* and Entrepreneurship Ecosystem Development. O objetivo do chamamento é selecionar até 40 projetos para apoiar empreendedores nacionais ou estrangeiros, que queiram desenvolver *startups* de quaisquer áreas no Estado de Minas Gerais. Os requisitos são: a) Ser brasileiro, nato ou naturalizado, ou estrangeiro em condição de permanecer no Brasil pelo período de participação no programa; b) Dois a três participantes por equipe no programa; c)

Empreendedores com idade mínima de dezoito anos;  
d) Pertencer a uma única equipe proponente.

O espaço disponibilizado para os participantes desenvolverem os seus projetos é um local inspirador de *coworking*. O edifício que abriga a sede do programa é tombado, integra o Conjunto Arquitetônico da Praça da Estação e é referência na promoção artística e cultural da capital. O espaço conta com acesso rápido à internet, sala de reuniões, espaço informal para conversas e troca de ideias, local para refeições e para jogos, para os empreendedores que queiram dar uma pausa e recarregar as energias.

O SEED também oferece todo o apoio que a sua *startup* precisa para tornar o seu negócio "*the next big thing*". Os participantes têm a possibilidade de conversar com mentores e especialistas de renome, das mais diversas áreas, para trocar ideias sobre seus projetos. E para complementar a formação empreendedora, é oferecida uma intensa programação, com treinamentos, palestras com empreendedores de sucesso e, como não poderia faltar, realização de *pitches* para clientes e potenciais investidores.

Com a internacionalização do SEED, o programa irá conectar pessoas de todo o mundo que queiram transformar suas ideias em realidade. O objetivo da internacionalização é colocar juntos os empreendedores de diferentes culturas, com ideias e conceitos totalmente distintos para colaborarem entre si, entrarem em contato com o mundo e se inserirem



no ecossistema de empreendedorismo mais famoso do país, o San Pedro Valley, em Belo Horizonte.

Alguns exemplos de *startups* aceleradas pela SEED são: Monetus - serviço de investimento online que está redefinindo o investimento no Brasil; Nexer – empresa que transforma carros comuns em carros conectados com o uso do dispositivo e do app da empresa; c) Planedia – site espanhol de planejamento de viagens que fornece ao usuário uma experiência de 360°. E é assim que a SEED está se tornando uma fábrica de inovação em Minas Gerais!

**PII – PROGRAMA DE  
INCENTIVO À  
INOVAÇÃO**



O Programa de Incentivo à Inovação (PII) é uma parceria da Secretaria de Estado de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (SECTES) do Governo de Minas Gerais com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE-MG), universidades federais de Minas Gerais e governos municipais. Criado em 2006, o PII tem o intuito de acelerar o processo de comercialização dos estudos desenvolvidos nas universidades e centros de pesquisa. Seu projeto piloto foi realizado em Lavras, com parceria da Prefeitura Municipal e Universidade Federal de Lavras (UFLA).

O Programa proporciona a criação de um ambiente onde os envolvidos podem interagir entre si,

promovendo o desenvolvimento do processo de inovação tecnológica nas universidades e a geração de negócios. Além disso, tem como prioridade estimular a criação de novas empresas (*spin-off*), realizar a transferência de tecnologias, atrair investidores de capital semente e empreendedores, além de elaborar um banco de oportunidades tecnológicas.

### *Sobre a seleção de projetos*

A seleção dos projetos participantes é feita por meio de chamadas públicas e estudos de viabilidade técnica, econômica e comercial. Os projetos selecionados recebem suporte financeiro destinado à compra de insumos, de equipamentos e à contratação de recursos humanos para a pesquisa e desenvolvimento da tecnologia. Os investimentos do PII acontecem em variadas áreas de pesquisa, como nas áreas de saúde, agricultura, meio ambiente entre outras.

Durante a participação no Programa, o pesquisador terá suporte financeiro e gerencial. O Programa se divide em duas etapas. A primeira envolve a elaboração do Estudo da Viabilidade Técnica, Econômica, Comercial e do Impacto Ambiental e Social (EVTECIAS), em que o pesquisador terá o suporte gerencial oferecido pelo PII. A segunda etapa é destinada para o desenvolvimento dos protótipos de produtos, processos ou serviços, além de um Plano de Negócio Estendido (PNE), que

compatibiliza organização de negócios e planejamento tecnológico. Isso fará com que o projeto transite pelas fases de pesquisa acadêmica, de prototipagem laboratorial da tecnologia e do produto até a fase de produto comercial prestes ao lançamento no mercado. Além da participação dos pesquisadores, é possível o envolvimento dos estudantes da instituição na elaboração dos EVTECIAS e PNE ou mesmo na sua participação como sócios das *spin-offs* geradas.

### *Resultados do programa*

Desde a criação do Programa em 2006, foram obtidos vários resultados – aqueles ditos “intangíveis” –, entre os quais o desenvolvimento regional com a comercialização de serviços; a criação de empregos e novas fontes de renda; a implantação da cultura de inovação dentro das universidades e centros de tecnologia; a atração de investimentos; e a capacitação e fortalecimento dos Núcleos de Inovação Tecnológica e das Incubadoras. Por sua vez foram resultados tangíveis: mais de 670 Projetos inscritos; nascimento de 01 Incubadora de Empresas de Base Tecnológica (IEBT); mais de 150 Planos de Negócios Estendidos (PNE) propostos e protótipos desenvolvidos; 11 livros publicados; 20 transferências tecnológicas; 22 novas empresas de base tecnológica; 62 patentes depositadas; e 8 novos produtos. Até hoje, já foram investidos mais de 23 milhões de reais em recursos, provenientes de órgãos de fomento,

investidores, venda de patentes e transferência de tecnologia.

Como resultado do PII na Universidade Federal de Minas Gerais, foi fundada a Oncotag, empresa especializada em tratamento personalizado para pacientes oncológicos e medicina personalizada.

### *Agradecimentos*

FAPEMIG, INCT MIDAS, CNPq e CAPES.

### *Referências*

ARAÚJO, M.H.; LAGO, R.M.; OLIVEIRA, L.C.A.; CABRAL, P.R.M.; CHENG, L.C.; BORGES, C.; FILION, L.J. O estímulo ao empreendedorismo nos cursos de Química: Formando químicos empreendedores. **Química Nova**, v. 28 (Suplemento), p. 18-25, 2005a.

ARAÚJO, M.H.; LAGO, R.M.; OLIVEIRA, L.C.A.; CABRAL, P.R.M.; CHENG, L.C.; BORGES, C.; FILION, L.J. "Spin-Off" Acadêmico: Criando riquezas a partir de conhecimento e pesquisa. **Química Nova**, v. 28 (Suplemento), p. 26-35, 2005b.

BRASIL ECONÔMICO. 2017. **Empreendedorismo: Brasil teve crescimento de 20% em abertura de empresas.** Disponível em: <http://economia.ig.com.br/2017-04-18/empreendedorismo-no-brasil.html>. Acesso em: 01 de setembro de 2017.

LAGO, R.M.; SANTOS, E.; BARROS, L. **As cartas de Tsuji: A história de um pesquisador e seus**

A Química na Produção Vegetal

**alunos criando uma empresa de base tecnológica.**

Belo Horizonte: Editora UFMG, 2011, 393 p.

REVISTA FONTE. 2017. **As startups e seus ecossistemas.** Disponível em: <[www.prodemge.gov.br/images/com\\_arismartbook/download/18/revista\\_fonte.pdf](http://www.prodemge.gov.br/images/com_arismartbook/download/18/revista_fonte.pdf)>. Acesso em: 01 de setembro de 2017.



# 11

## MÉTODOS DE ANÁLISE E COMPORTAMENTO DE HERBICIDAS NO SOLO

**Roque de Carvalho Dias** <sup>(1)</sup>

**Kassio Ferreira Mendes** <sup>(2)</sup>

**Cassiano Rodrigues de Oliveira** <sup>(3)</sup>

**Laís Franchini Pucci** <sup>(4)</sup>

**Marcelo Rodrigues dos Reis** <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Proteção de Plantas. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, 18610-307. Botucatu, SP, Brasil. E-mail: roquediasagro@gmail.com

<sup>(2)</sup> Laboratório de Ecotoxicologia, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: kassio\_mendes\_06@hotmail.com. <sup>(3)</sup> Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil.

E-mail: cassiano.oliveira@ufv.br <sup>(4)</sup> Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil. E-mails: laisfpucci@gmail.com; marcelo.reis@ufv.br

### *Introdução*

Na agricultura contemporânea, o uso do alto nível tecnológico visando altas produtividades e qualidade dos produtos requer uso intensivo de insumos agrícolas, seja para nutrição mineral, ou para o manejo e controle de pragas, doenças e plantas daninhas. Para o manejo de plantas daninhas, o controle químico constitui-se uma prática fundamental, devido à sua maior eficiência,

praticidade, e menores custos em comparação a outros métodos de controle. Todavia, mesmo com todos os benefícios associados ao uso de herbicidas, tem sido observados inúmeros efeitos adversos ao ambiente e prejuízos para cultivos em sucessão pelo uso inadequado ou pela falta de informação sobre o produto.

Com o propósito de atender às recomendações seguras dos herbicidas, é de suma importância o estudo do seu comportamento no ambiente, visto que, após cumprirem sua função, o controle de plantas daninhas, essas moléculas podem permanecer no ambiente por tempo indeterminado, principalmente no solo. No ambiente, esses compostos, após aplicados, estão sujeitos aos processos físico-químicos que regulam seu destino, podendo causar impacto ambiental negativo. Os principais processos são: retenção (sorção - adsorção e absorção), transformação (degradação química e/ou biológica e fotodegradação), transporte (volatilização, lixiviação, escoamento superficial e absorção pelas plantas) e a interação entre eles.

O efeito residual de herbicidas no solo pode prejudicar o cultivo em sucessão de culturas sensíveis e reduzir a produtividade e a qualidade dos produtos, fenômeno este também conhecido como *carryover* (Mancuso et al., 2011). O efeito residual é a habilidade que um herbicida tem em reter a integridade de sua molécula e, conseqüentemente, suas características físicas, químicas e funcionais no ambiente (Oliveira, 2001). Esse efeito é influenciado pelas características



do solo (microrganismos, umidade, textura, estrutura, porosidade, teor de carbono, e pH), condições ambientais (temperatura e precipitação), do herbicida utilizado (grau de retenção, meia-vida, constante de ionização, dose, pressão de vapor e solubilidade), e da cultura em sucessão (Bedmar & Gianelli, 2014).

Diante da complexidade do comportamento de herbicidas no solo, detectar e quantificar determinado herbicida pode influenciar diretamente nas tomadas de decisões dos sistemas de produção agrícola. Dentre os métodos de monitoramento e avaliação de resíduos de herbicidas no solo, tem-se o bioensaio método biológico simples, rápido e de baixo custo, na qual utilizam-se plantas que demonstram alta sensibilidade ao produto avaliado. Além disso, existem os métodos químicos de análise com alta sensibilidade e eficiência na quantificação, por meio da espectrometria de cintilação líquida e as cromatografias líquidas, a gás e de camada delgada.

Assim, devido a importante função assumida pelos herbicidas no controle de plantas daninhas deve-se considerar os seguintes fatores para minimizar os efeitos adversos desses produtos: sistema rotacional de culturas a curto e médio prazo, nível de infestação de plantas daninhas, banco de sementes, variedade cultivada, sistema de semeadura, as condições edafoclimáticas predominantes e o comportamento do produto no solo. As técnicas de fitorremediação e biorremediação podem também reduzir o risco do impacto ambiental desses produtos. Os estudos envolvendo a dinâmica de herbicidas em

solos são fundamentais na manutenção da qualidade ambiental, na eficiência de controle das plantas daninhas nos cultivos da safra e no planejamento de plantio das culturas sucessoras.

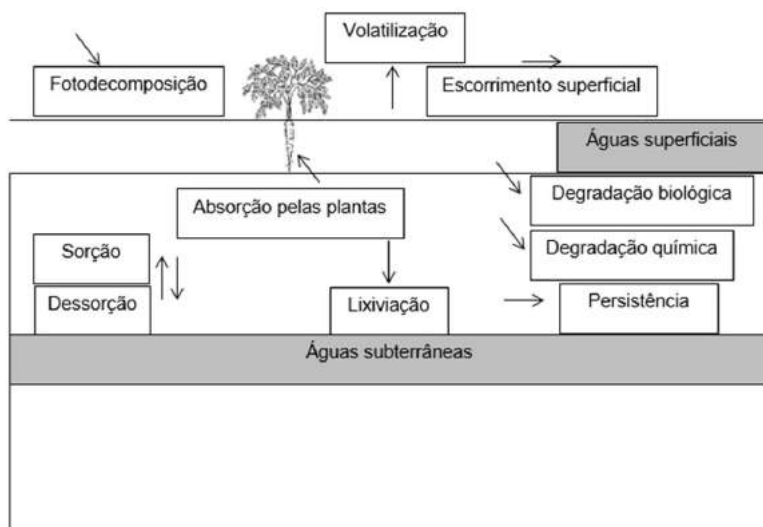
Neste capítulo, serão abordados os processos que influenciam na dinâmica de herbicidas no solo, os métodos de análises de herbicidas no solo e os efeitos negativos dos resíduos desses produtos em culturas sensíveis. Também, algumas estratégias para minimizar os efeitos adversos desses produtos no ambiente.

### *Processos na dinâmica de herbicidas no solo*

O comportamento dos herbicidas no perfil do solo afetará a duração do período de controle das plantas daninhas e a eficácia dos herbicidas, principalmente os pré-emergentes que são aplicados diretamente no solo, além dos impactos ao meio ambiente (Westra et al., 2014). Portanto, o estudo do comportamento de herbicidas tem sido realizado através de estimativas das tendências a que estes estão sujeitos em função de três principais processos: retenção (adsorção e dessorção), transporte (volatilização, lixiviação, escoamento superficial e absorção pelas plantas) e transformação (fotodecomposição, degradação biológica e química) (Figura 1), que interagem entre si, embora esses processos sejam descritos de forma isolada (Silva et al., 2007a).

## Processos de retenção

A retenção dos herbicidas pela fase sólida do solo, teoricamente conhecido pelo processo de adsorção, é medido pelos coeficientes de partição ( $K_d$  e  $K_{oc}$ ) a partir da solução aquosa. Tipicamente, a adsorção do herbicida aumenta com o aumento do teor de carbono orgânico e de argila mineral no solo, resultando conseqüentemente no retardamento do movimento do herbicida no solo (Mendes et al., 2014). As moléculas adsorvidas de herbicidas podem retornar à solução do solo pelo processo de dessorção, ou permanecerem retidas em uma forma indisponível, denominada de resíduo ligado (Christoffoleti et al., 2008).



**Figura 1.** Representação esquemática do comportamento dos herbicidas no solo. Adaptado de Bedmar & Gianelli (2014).

O processo de adsorção normalmente é descrito através de uma relação gráfica entre a quantidade adsorvida de adsorvato ( $q_e$ ) em razão da concentração do adsorvato em equilíbrio na solução ( $C_e$ ) à temperatura constante comumente chamada de isoterma de adsorção. Vários modelos de isotermas de adsorção são descritos na literatura, sendo os mais conhecidos, os modelos de Langmuir (1918) e Freundlich (1907).

A isoterma de Langmuir é concebida para um processo de adsorção em um sistema ideal, em que as moléculas de adsorvato se concentram na interface do adsorvente em sítios bem definidos, formando uma monocamada homogênea. Neste modelo, assume-se que cada sítio de adsorção adsorve apenas uma única molécula, e que a energia envolvida na adsorção de uma molécula de adsorvato é a mesma para todos os sítios da interface e que este conteúdo energético independe da presença ou não de outras moléculas nos sítios adjacentes, ou seja, não há interação entre moléculas adjacentes de adsorvato. A equação 1 expressa o modelo da isoterma de Langmuir:

$$q_e = \frac{q_{max}K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (1)$$

Onde,  $C_e$  representa a concentração do adsorvato em equilíbrio na solução,  $q_e$  é a quantidade adsorvida de adsorvato,  $K_L$  e  $q_{max}$  são constantes relacionadas com a afinidade dos sítios ligantes

(energia de adsorção) e com a capacidade de adsorção máxima de monocamada, respectivamente.

O modelo da isoterma empírica de Freundlich preconiza a existência de uma interface heterogênea com diferentes sítios e, portanto, diferentes energias de adsorção e na possibilidade de formação de multicamadas. A equação 2 descreve o modelo da isoterma de Freundlich:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (2)$$

Onde,  $q_e$  é a quantidade de adsorvato adsorvida pelo adsorvente no equilíbrio,  $C_e$  é a concentração de adsorvato em solução no equilíbrio,  $K_F$  e  $n$  são constantes de Freundlich que relatam a capacidade de adsorção e a distribuição de energia dos sítios de adsorção assim como a magnitude da força predominante de adsorção, respectivamente (Oliveira, 2012).

Os modelos de Langmuir e Freundlich podem ajustar os dados experimentais a partir da aplicação de suas formas linearizadas (equações 3 e 4).

$$\frac{C_e}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_{\max}} C_e + \frac{1}{K_L \Gamma_{\max}} \quad (3)$$

$$\ln \Gamma = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (4)$$

Os diagramas de  $\frac{C_e}{\Gamma} \times C_e$  e  $\ln \Gamma \times \ln C_e$  permitem calcular as constantes de Langmuir e Freundlich, respectivamente.

Os valores de  $K_d$  e  $K_{oc}$  podem ser estimados a partir das constantes dos modelos de isotermas de adsorção. O valor destas constantes é fundamental para determinar as propriedades termodinâmicas de adsorção, e conseqüentemente descrever os fatores que influenciam o processo.

### *Determinação de $\Delta_{ads}G^\circ$*

A relação entre a variação da energia de Gibbs padrão de um processo de adsorção (de  $\Delta_{ads}G^\circ$ ) e sua constante de equilíbrio é dada por:

$$\begin{aligned} \Delta_{ads}G^\circ \\ = -RT \ln K_{ads}^\circ \end{aligned} \quad (5)$$

Sendo  $R$  a constante universal dos gases,  $T$  a temperatura dada em Kelvin e  $K_{ads}^\circ$  é a constante de equilíbrio do processo de adsorção. Se o valor de  $\Delta_{ads}G^\circ$  for negativo, define-se o processo adsorptivo como espontâneo.

### *Determinação de $\Delta_{ads}H^\circ$*

A variação da entalpia padrão de adsorção ( $\Delta_{ads}H^\circ$ ) pode ser obtida a partir de uma relação linear, na qual a inclinação da reta proveniente da regressão linear do gráfico de  $\ln K_{ads}^\circ$  versus o inverso da temperatura em Kelvin ( $1/T$ ) possibilita determinar essa grandeza, conforme descrito na equação 6.

$$\ln K_{ads}^\circ = -\frac{\Delta_{ads}H^\circ}{RT} + \frac{\Delta_{ads}S^\circ}{R} \quad (6)$$

A equação 6 também é conhecida como equação de Vant' Hoff, e estabelece a relação entre a constante de equilíbrio ( $K_{ads}^\circ$ ), a variação de temperatura e a variação de entropia padrão de adsorção ( $\Delta_{ads}S^\circ$ ) e a variação de entalpia padrão de adsorção ( $\Delta_{ads}H^\circ$ ).

O valor de  $\Delta_{ads}H^\circ$  nos permite-nos dizer se a adsorção é um processo endotérmico ( $\Delta_{ads}H^\circ > 0$ ) ou exotérmico ( $\Delta_{ads}H^\circ < 0$ ). Além disso, este valor expressa, em ordem de magnitude, o tipo de interação existente entre o herbicida e o solo. Neste caso, o processo de adsorção pode ser físico ( $\Delta_{ads}H^\circ$  com baixo valor, em módulo) ou químico ( $\Delta_{ads}H^\circ$  com alto valor, em módulo). No processo físico, interações fracas como de Van der Waals, envolvendo dipolos e

ligações de hidrogênio estão presentes, enquanto no processo químico há a formação de ligações químicas, como iônica ou covalente. Evidentemente que pode haver a contribuição de vários tipos de interação para a composição do valor final de  $\Delta_{ads}H^\circ$ , e isto dependerá da complexidade do sistema estudado, em termos de natureza química e número dos componentes do sistema.

### *Determinação de $\Delta_{ads}S^\circ$*

A variação de entropia padrão de adsorção é determinada a partir da equação 7 de Gibbs-Helmholtz:

$$\begin{aligned} \Delta_{ads}G^\circ \\ = \Delta_{ads}H^\circ - T\Delta_{ads}S^\circ \end{aligned} \quad (7)$$

A descrição das isotermas de adsorção e das propriedades termodinâmicas é ferramenta muito útil na compreensão da dinâmica do herbicida do solo, pois elas definem como será o transporte deste ao longo dos extratos, bem como sua disponibilidade para outros processos.

### *Processos de transporte*

O transporte é definido como a movimentação do herbicida no solo, podendo ocorrer por lixiviação, escorrimento superficial, volatilização e absorção pelas



plantas (Christoffoleti et al., 2008). A intensidade de transporte do herbicida depende de vários fatores, tais como dose de aplicação, persistência e mobilidade, precipitação, topografia e clima do local. A lixiviação refere-se ao movimento vertical do herbicida em profundidade no solo, no fluxo de massa em função da força gravitacional e das diferenças de pressão da água nos poros do solo (Carter, 2000), enquanto o escoamento superficial diz respeito a seu movimento lateral, sobre a superfície do solo, sendo ambos dependentes da pluviosidade e do tempo e, ou da intensidade de irrigação. A volatilização é o processo pelo qual o herbicida é transportado do solo para a atmosfera, devido à passagem das moléculas do estado líquido para a forma de vapor, dependendo da sua pressão de vapor. Esta é mais significativa quando os resíduos dos herbicidas permanecem na superfície de solos secos ou úmidos, pois a incorporação de herbicidas no perfil do solo pode reduzir significativamente as perdas causadas por volatilização (Carter, 2000).

### *Processos de transformação*

O herbicida no solo está suscetível de forma mais significativa à transformação pela ação biológica, pois o solo é um ecossistema complexo onde diversos organismos atuam de forma ativa e significativa na degradação de herbicidas, sendo determinantes na transformação e formação de metabólitos dessas moléculas no ambiente (Nitisakulkan et al., 2014; Ilieva

& Vasileva, 2014). Também, está suscetível em menor escala à degradação química, principalmente, pela ação da água (hidrólise) e luz (fotólise). Não raro, os metabólitos originados da transformação de herbicidas no solo podem ser mais persistentes, mais tóxicos e mais lixiviáveis do que a molécula original. Dessa forma, serão abordados os principais mecanismos de transformação de herbicidas na degradação biológica e química.

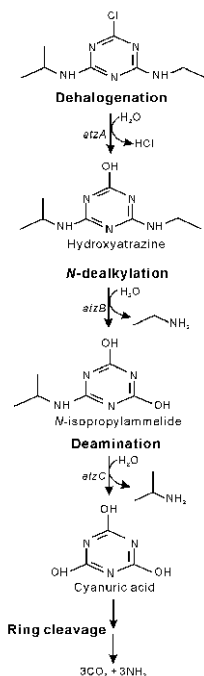
### *Degradação biológica*

O tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) dos herbicidas no solo é uma medida indireta da transformação dos mesmos. No entanto, valores  $t_{1/2}$  de um mesmo herbicida são muito variáveis na literatura e essa variabilidade é atribuída aos diferentes tipos de solo e, ou, condições climáticas (Laabs et al., 2002). Dessa forma, torna-se evidente que a ação biológica é uma das principais vias de transformação de herbicidas, pois as propriedades químicas e físicas dos solos e as condições climáticas influenciam diretamente na fração viva do solo seja na diversidade de espécies ou na população de cada espécie. A fração viva do solo é composta basicamente por fungos, bactérias, leveduras, microartrópodes e minhocas.

A transformação dos herbicidas no solo frequentemente ocorre com a ação conjunta desses organismos do solo, geralmente, em forma de consórcio, as etapas de degradação biológica por espécies diferentes são realizadas em sequência.

## A Química na Produção Vegetal

Dentre os herbicidas, a transformação da atrazine no solo está mais bem compreendida, pois é amplamente utilizado há anos no mundo, apresenta alta persistência no solo e, frequentemente, tem sido detectado em águas subterrâneas e superficiais. Várias rotas metabólicas de transformação da atrazine são relatadas na literatura, nas quais comumente estão envolvidos os genes *atzA*, *atzB*, *atzC* e *atzD* (Ralebitso-Senior et al., 2002). Os principais gêneros envolvidos na transformação da atrazine são *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Nocardioides* e *Agrobacterium* (Mudhoo & Garg, 2011). A transformação completa de atrazine foi elucidada utilizando *Pseudomonas* sp. cepa ADP conforme proposto por Souza et al. (1998) (Figura 2).



**Figura 2.** Rota de transformação de atrazine elucidada com *Pseudomonas* sp. cepa ADP, conforme proposto por de Souza et al. (1998).

As minhocas também foram relatadas com atividade na transformação da atrazine atuando de forma indireta pela modificação do tamanho e diversidade das comunidades de bactérias e fungos do solo (Binet et al., 2006). Esse aumento das comunidades microbianas também é observado na rizosfera, em que as raízes de plantas exsudam substâncias que são fonte de carbono e energia para os organismos, assim promovendo o estímulo para transformação de herbicidas no solo (Sylvia et al., 2005).

Cerca de 15 metabólitos originados da transformação da atrazine no solo tem sido identificados, dos quais os principais são o desethylatrazine (DEA), deisopropylatrazine (DIA), didealkylatrazine (DDA) e hydroxyatrazine (HYA) (Mudhoo & Garg, 2011).

As temperaturas do ar e, principalmente, do solo são primordiais no processo de transformação de herbicidas no solo. Martinez et al. (2008c) reportaram que a taxa de degradação do sulfentrazone foi superior em solos incubados a 30°C em relação a 27°C e que os microorganismos potenciais degradadores são *Rhizobium radiobacter*, *Ralstonia pickettii*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Cladosporium* sp., *Eupenicillium* sp. e *Paecilomyces* sp.

### *Degradação química: fotólise e hidrólise*

A degradação química do herbicida no solo dependerá da natureza química e da interação entre

estes dois componentes. Os tipos de degradação mais comuns são a oxidação, a fotólise e a hidrólise.

Na oxidação, a degradação dos herbicidas ocorrerá preferencialmente mediante condições secas, pois em solos com altos teores de umidade o processo preferencial de degradação será a hidrólise. Além disso, herbicidas de alto estado de oxidação apresentam maiores resistências à degradação por oxidantes (Cycoń & Piotrowska-Seget, 2006). Outro fator que pode interferir é a biodegradação em meios aerados, a partir da ação de microorganismos. Neste caso, a ação de oxidantes químicos é bastante minimizada.

Desta forma, a maioria dos estudos apresentados em literatura apresenta soluções de degradação por oxidação através de processos de tratamento dos resíduos da agricultura, especialmente em águas contaminadas com herbicidas. Dentre os agentes químicos mais aplicados estão o reagente de Fenton (íons ferro e  $H_2O_2$ ),  $H_2O_2$  e ozônio ( $O_3$ ) (Goi, 2005).

Geralmente os processos oxidativos são conjugados com processos fotolíticos. A degradação de glyphosate, por exemplo, pode ser realizada através do processo foto-Fenton. Em trabalho publicado por Souza et al. (2013), as adições de íons  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ , de íons oxalato e de  $H_2O_2$  foram estudadas como condições de degradação deste herbicida. Os pesquisadores observaram que há redução considerável de toxicidade do herbicida quando a degradação ocorre. Efeitos de degradação

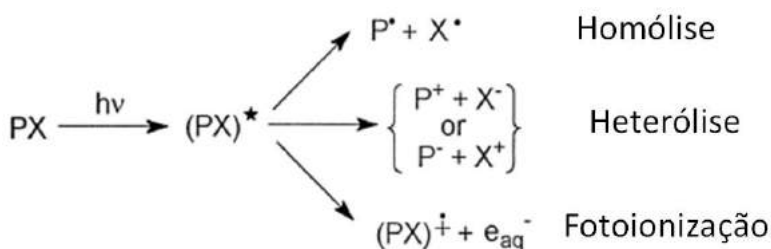
foram também observados quando o processo foto-Fenton foi aplicado no herbicida 2,4D (ácido diclorofenoxiacético). Segundo os autores do trabalho, há influência do pH e da temperatura na oxidação do pesticida, sendo que a mineralização pode ocorrer em 55% de extensão num período de 180 minutos (Conte et al., 2014).

A fotólise ou fotodegradação é um tipo de decomposição de herbicidas em que a molécula-alvo é estruturalmente modificada a partir da ação de fótons. Esta ação não se restringe à luz visível, sendo os herbicidas suscetíveis de degradação em várias faixas do espectro eletromagnético. Muitos estudos de fotodegradação de pesticidas têm sido publicados, embora a maioria seja em condições controladas. A fotodegradação ou fotólise pode ser fundamental na transformação de herbicidas expostos a luz solar, principalmente, nos comprimentos de onda abaixo de 400nm (Sakellarides et al., 2003). Esse fenômeno é dependente do pH, oxigênio e composição do meio aquoso, como por exemplo, a presença de alguns íons metálicos como o  $\text{Cu}^{2+}$  (Ciésła et al., 2004; Zhang et al., 2006; Le Person et al., 2016). Para o mesotrione, ambientes com pH elevado (9,5), aerados e com presença de  $\text{Cu}^{+2}$  sob comprimento de onda de 333nm houve favorecimento da transformação, originando quatro metabólitos: HNBA (2-hydroxy-4-(methylsulfonyl)-2-nitrobenzoic acid), MNBA (4-(methylsulfonyl)-2-nitrobenzoic acid), AMBA (4-(methylsulfonyl)-2-aminobenzoic acid) e xanthene

(1H-xanthene-1,9-dione-6-methylsulfonyl (Le Person et al., 2016).

Em 2002, Burrows et al. publicaram uma revisão contendo a descrição de trabalhos de fotodegradação de pesticidas, incluindo herbicidas. Segundo os autores, há quatro diferentes classes de fotodegradação: direta, fotosensitiva, focalizada e degradação por reação com o radical hidróxido.

Em relação à degradação direta por ação da radiação solar, observa-se que a maioria dos herbicidas oferece resistência à fotólise. Este fato está relacionado com duas causas: as moléculas de herbicidas absorvem radiação ultravioleta (UV) em curtos comprimentos de onda e a luz UV solar oferece uma faixa muito estreita desses comprimentos de onda, limitando a extensão da decomposição. Por outro lado, o esquema geral de efeito de irradiação direta em herbicidas permite três vias de degradação: homólise, heterólise ou fotoionização, conforme mostrado na Figura 3.



**Figura 3.** Possíveis alternativas para fotodegradação via irradiação direta (Burrows et al., 2002).

Em todas as rotas de degradação, as condições experimentais podem influenciar na velocidade de

reação. Por exemplo, para degradação em águas naturais, substâncias húmicas e fúlvicas podem acelerar a degradação (Sakkas et al., 2002).

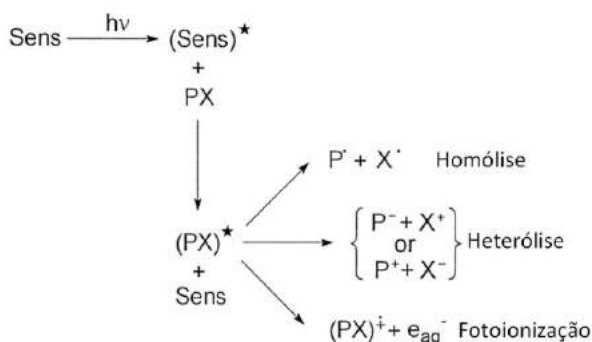
Na degradação fotossensitiva, uma molécula fotossensível pode absorver a energia radiante formando um estado excitado (Figura 4), capaz de ceder a energia ao herbicida, realizando os mesmos processos observados na fotodegradação direta.

Uma das vantagens de se utilizar este tipo de fotodegradação é a aplicação de comprimentos de onda maiores do que aqueles atribuídos à excitação da maioria das moléculas de pesticidas. Moléculas fotossensíveis para degradar herbicidas podem ser aminas alifáticas (Lin et al., 2000), ácidos húmicos (Prosen & Zupančič-Kralj, 2005) e acetona (Korte et al., 1997).

Na degradação fotocatalisada, o uso de um catalisador permite o aumento da velocidade da decomposição do herbicida. Esta degradação aplica uma série de materiais catalisadores, sendo o  $\text{TiO}_2$  um dos mais promissores e populares. A degradação por fotocatalise oferece algumas vantagens, tais como: poucas horas para oxidação completa do pesticida, a não formação de produtos policíclicos, disponibilidade de catalisadores altamente ativos e baratos, oxidação de poluentes na faixa de ppb.



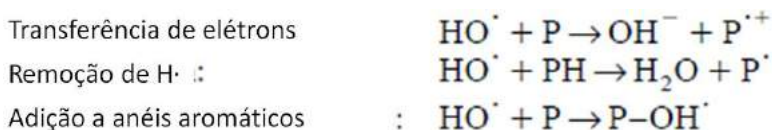
## A Química na Produção Vegetal



**Figura 4.** Alternativas para a fotólise fotossensível envolvendo transferência de energia (Burrows et al., 2002).

Além dessas vantagens, a degradação fotocatalítica oferece enorme variabilidade de condições ou aplicações, tais como uso de catalisadores dopados (Mermana et al., 2017), usos de oxidantes em conjunto com catalisadores (Orge et al., 2017) e degradação enantiosseletiva (Zhang et al., 2017).

Finalmente, na degradação com radical hidróxido, usam-se diversas rotas de geração do radical, e este, uma vez gerado, pode reagir com as moléculas dos herbicidas através de três mecanismos: transferência de elétrons, remoção de radical H· ou por adição em anéis aromáticos, conforme mostrado na Figura 5.



**Figura 5.** Possíveis reações entre o radical hidróxido (HO·) com a molécula de pesticida (P) (Burrows et al., 2002).

Uma das formas mais comuns de geração de radical hidróxido é através do processo oxidativo avançado Foto-Fenton. Neste processo, íons  $\text{Fe}^{2+}$  reagem com  $\text{H}_2\text{O}_2$  na presença de luz, gerando o radical.

Estudos recentes mostram que há uma boa aplicabilidade do método em glyphosate (Souza et al., 2013) e 2,4-D (Conte et al., 2014).

A hidrólise ou ação da água na degradação de herbicidas é primordial, pois tanto a degradação biológica quanto a fotodegradação são dependentes da presença de água. No entanto, a hidrólise (degradação) de herbicidas em água pura é muito variável dependendo da molécula como por exemplo o diclosulam e atrazine com  $t_{1/2}$  em água respectivamente de 64 e 578 dias em pH neutro (Li et al., 2014; Pritam et al., 2016). A hidrólise é dependente do pH do meio e do caráter ácido ou básico da molécula.

### *Principais propriedades físico-químicas dos herbicidas*

As principais propriedades físico-químicas dos herbicidas serão descritas abaixo, conforme Linde (1994).

- *Solubilidade (S)*: A S é uma medida da quantidade de herbicida que pode dissolver na água, quando em equilíbrio com o herbicida puro em seu estado de agregação (Schwarzenbach, 1993). A unidade de S é

geralmente expressa em g/100 g de água, embora valores em mg L<sup>-1</sup> (miligramas por litro) sejam também encontrados. Os fatores relacionados à natureza química do herbicida e sua interação com o meio que podem afetar a solubilidade são: polaridade, ligações de hidrogênio, tamanho molecular, temperatura, pH e isomeria espacial.

Se a solubilidade em água de um herbicida é conhecida, a distribuição deste no ambiente e as possíveis vias de degradação podem ser determinadas. Por exemplo, os herbicidas que têm solubilidades elevadas permanecerão em água e tendem a não ser adsorvidos no solo e em organismos vivos.

- *Coefficiente de partição octanol-água (K<sub>ow</sub>)*: É definida como uma propriedade capaz de gerar a estimativa de hidrofobicidade ou hidrofiliicidade de dado herbicida ao sofrer partição em meio aquoso e meio orgânico, como expresso a seguir:

$$K_{ow} = [C_{\text{octanol}}]/[C_{\text{água}}] \quad (8)$$

Em que C<sub>octanol</sub> = Concentração na fase octanol e C<sub>água</sub> = Concentração na fase água.

Nesta equação, as unidades de concentrações são canceladas e K<sub>ow</sub> é adimensional. Os valores para os herbicidas podem ser elevados, então os valores de K<sub>ow</sub> geralmente são expressos em "log K<sub>ow</sub>" e variam de -3 a 7. Valores baixos são facilmente medidos

desde que o herbicida esteja preferencialmente na fase aquosa. Os valores de  $\log K_{ow}$  maiores que quatro devem ser estimados, devido à dificuldade de medição. Herbicidas com elevados valores de  $K_{ow}$  são podem ser mais persistentes, uma vez que podem ser sorvidos nos solos e em organismos vivos. Quanto mais polar for o herbicida, diz-se que maior é a sua hidrofobicidade. Ao contrário, herbicidas com características apolares são considerados lipofílicos. Os fatores da molécula que afetam o  $K_{ow}$  são: polaridade, área de superfície molecular, ponto de ebulição, volume molar, peso molecular e densidade.

- *Constante de adsorção ( $K_d$ ) em relação ao teor de carbono orgânico ( $K_{oc}$ ):* A adsorção dos herbicidas em solos é um fator de retenção que influencia diretamente no transporte e na eventual degradação dos herbicidas. A maioria dos herbicidas são apolares e hidrofóbicos, o que significa que são pouco solúveis em água. Por outro lado, o aumento de polaridade em herbicidas facilita a solubilização em água. Herbicidas apolares tendem a ser mais imobilizados em solos que contêm compostos orgânicos apolares (carbono orgânico - CO) do que solubilizados em água. Os solos variam na quantidade de teores de CO, que é principalmente o que determina a quantidade adsorvida do herbicida.  $K_d$  é chamado de coeficiente de adsorção e relaciona a quantidade de herbicida adsorvida no solo ( $q_e$ ) e a concentração no equilíbrio deste na água ( $C_e$ ) através da expressão:

$$K_d = q_e/C_e \quad (9)$$

Valores de  $K_d$  variam muito porque o teor de CO no solo não é considerado na equação. Neste caso, a constante preferencial para determinar a capacidade de adsorção de herbicida no solo é  $K_{oc}$  ( $\text{kg L}^{-1}$ ), uma vez que considera o teor de CO no solo:

$$K_d = [C_{\text{solo}}]/[C_{\text{água}}] \quad (10)$$

Em que  $C_{\text{solo}}$  = Concentração do herbicida no solo;  $C_{\text{água}}$  = Concentração do herbicida na água. E  $K_{oc}$  seria dado por:

$$K_{oc} = (K_d \times 100) / (\% \text{ CO}) \quad (11)$$

Dentre os fatores da molécula e do solo que afetam o  $K_d$  destacam-se o teor de CO, polaridade, salinidade, matéria orgânica na solução, pH, textura e mineralogia do solo.

- *Pressão de vapor (PV)*: Considerando que o sistema solo-herbicida-atmosfera obedeça à lei de Henry, a pressão de vapor de um herbicida determinará como ele será transportado da superfície do solo para a atmosfera. Desta forma, a PV indica a tendência à qual um herbicida irá evaporar e se sua forma volátil terá dispersão baixa ou elevada. Se a PV for elevada,

haverá elevado percentual do herbicida disponível na fase vapor, o que indica que o composto é muito volátil. De acordo com a PV pode-se inferir como o herbicida no ar exerce influência na superfície de solos atingidos pela pluma de dispersão.

À temperatura ambiente, os valores de PV podem variar de  $10^{-5}$  a 300 mm de Hg (mercúrio), que também podem ser expressas em Pa (Pascal). A PV é afetada pelo ponto de ebulição normal, polaridade, solubilidade, massa molecular, temperatura, umidade, velocidade do vento, entre outros.

- *Constante da lei de Henry (H)*: H é uma constante de proporcionalidade linear entre medida da pressão parcial de um herbicida no ar sobre sua concentração na água. Um herbicida com uma elevada H volatilizará a partir da água para o ar e será distribuído em áreas distantes do local de volatilização. Herbicidas com uma baixa H tendem a persistir em água e podem ser adsorvidos no solo. O valor H é parte integrante do cálculo da volatilidade de um herbicida. H de um herbicida é geralmente expressado de duas maneiras:

$$H = \frac{\text{[Concentração na fase gasosa]}}{\text{[Concentração na fase líquida]}} \quad (11)$$

Ou

$$H = \frac{\text{[Pressão de vapor no líquido]}}{\text{Solubilidade do herbicida}} \quad (12)$$

A primeira equação é adimensional desde que as unidades para concentrações cancelam. A segunda

equação é usualmente representada em unidades de Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>. Os fatores que afetam a H são os mesmos da PV.

- *Tempo de meia-vida da degradação (t<sub>1/2</sub>):* O t<sub>1/2</sub> é definido como o tempo necessário para que ocorra a degradação de 50% da quantidade inicial do herbicida aplicado. Para o cálculo do t<sub>1/2</sub> (dias) normalmente utilizam-se equações não-lineares de regressão, tais como:

$$C_t = C_0 * e^{-kt}, \quad t_{1/2} = 0,693/k \quad (13)$$

Em que C<sub>t</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) representa a concentração do herbicida no tempo t, C<sub>0</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) a concentração inicial do herbicida e k, a constante de degradação. O t<sub>1/2</sub> é basicamente dependente de quatro fatores: solo (teor de CO, pH e textura), população de microrganismos presentes, ambiente (temperatura e precipitação) e práticas culturais (sistema de plantio e doses aplicadas).

- *Constante dissociação eletrolítica (pK<sub>a</sub>):* O pK<sub>a</sub> representa a capacidade de dissociação um herbicida possui em água. O comportamento dos herbicidas é muito influenciado pelo seu pK<sub>a</sub>, podendo ser encontrados na forma dissociada (ionizada, ácidos fracos ou bases fracas) e não-dissociada (não-ionizada ou neutra). Neste caso, fica evidente que o pK<sub>a</sub> influenciará as constantes de adsorção (K<sub>d</sub> e K<sub>oc</sub>) e de

partição ( $K_{ow}$ ), formando um processo de mudanças em cascata, de acordo com o deslocamento do equilíbrio de dissociação em água. Temperatura, pH, presença de íons comuns e agentes de degradação podem variar o equilíbrio de dissociação, disponibilizando o herbicida em maior ou menor concentração para os outros processos de transporte e absorção. Desta forma, destaca-se a importância de se definir claramente as variáveis envolvidas no estudo de herbicidas no solo, para garantir explicações coerentes quanto aos resultados de experimentos em campo.

### *Efeito residual de herbicidas no solo em culturas sucessoras*

A atividade residual dos herbicidas no solo é importante para suprimir novos fluxos de plantas daninhas e permitir que a cultura possa emergir em ambiente com competição mínima ou nula. Entretanto, os resíduos de herbicidas no solo podem levar à intoxicação e prejudicar o crescimento e desenvolvimento de culturas em sucessão. Dessa forma, destaca-se a importância de estudos convencionais, em campo, que avaliam o efeito residual de herbicidas aplicados na cultura antecessora, bem como de estudos que simulam ou comprovam este efeito em cultivo de culturas anuais (Tabela 1) e olerícolas (Tabela 2).



## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 1.** Efeito residual de herbicidas em culturas anuais.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
Algodão	sulfentrazone	210, 400, 800, 840	Um ano	Intoxicação, altura de plantas e redução de produtividade	Tennessee, Carolina do Norte, Arkansas, Oklahoma e Kentucky, EUA	Ferrell et al. (2003); Main et al. (2004); Pekarek et al. (2010)
	imazaquin	140 e 280, 35, 70, 140 e 280	Um ano 0-364 dias	Intoxicação Intoxicação	Missouri, EUA Arkansas, EUA	Walsh et al. (1993) Johnson et al. (1995)
	nicosulfuron+ atrazine e nicosulfuron	30+150 e 60	60 e 45 dias	Intoxicação e redução na altura das plantas	Mato Grosso do Sul, Brasil	Carvalho et al. (2010)
Feijão	S-metolachlor	2,88 e 5,76	120 dias	Intoxicação, redução na altura e massa seca	Paraná, Brasil	Santos et al. (2012)
	metribuzin	240 a 480	Plantio logo após a aplicação	Intoxicação, redução de matéria seca da parte aérea e morte das plantas	Minas Gerais, Brasil	Walperes et al. (2015)
	diuron	1250	207 dias	Intoxicação e redução na massa seca	Paraná, Brasil	Gheno et al. (2016)
Girassol	diclosulam	35	115 dias	Intoxicação, redução na massa seca, altura e rendimento de aquênios	Goiás, Brasil	Dan et al. (2012)
	imazethapyr	100	115 dias	Intoxicação, redução na massa seca, altura e rendimento de aquênios	Goiás, Brasil	Dan et al. (2012)

Continua...

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 1 (Continuação).** Efeito residual de herbicidas em culturas anuais.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Milheto</b>	sulfentrazone	600	120 dias	Intoxicação, redução do estande, matéria seca, altura e produtividade	Goiás, Brasil	Dan et al. (2011)
	imazethapyr	100	120 dias	Intoxicação, redução do estande, matéria seca, altura e produtividade	Goiás, Brasil	Dan et al. (2011)
<b>Milho</b>	diuron	1250	70 dias	Intoxicação	Paraná, Brasil	Gheno et al. (2016)
	diclosulan	33,6	30 dias	Intoxicação e redução de produtividade	Paraná, Brasil	Artuzi & Contiero (2006)
	chlorimuron-ethyl	20	60 dias	Redução da massa seca	Paraná, Brasil	Alonso et al. (2011)
	imazethapyr	100	30 dias	Redução da massa seca	Paraná, Brasil	Alonso et al. (2011)
	imazethapyr	80	Um ano	Intoxicação, redução de matéria seca da parte aérea e de produtividade	Ontário, Canadá	Ulbrich et al. (1998)
	imazaquin	180 35, 70, 140 e 280	60-120 dias 0-364 dias	Redução na massa seca Intoxicação	Paraná, Brasil; Arkansas, EUA	Alonso et al. (2011); Johnson et al. (1995)
<b>Soja</b>	S-metolachlor	2,88 e 5,76	120 dias	Intoxicação e redução na massa seca	Paraná, Brasil	Santos et al. (2012)
	diuron	1250	215 dias	Intoxicação e redução na massa seca	Paraná, Brasil	Gheno et al. (2016)

Continua...

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 1 (Continuação).** Efeito residual de herbicidas em culturas anuais.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Soja</b>	amicarbazone	420	120 dias	Redução na massa seca	Paraná, Brasil	Alonso et al. (2011)
	isoxaflutole	56,25	60-120 dias	Redução na massa seca	Paraná, Brasil	Alonso et al. (2011)
	MSMA	2370	60 dias	Redução na massa seca	Paraná, Brasil	Alonso et al. (2011)
<b>Sorgo</b>	fomesafen	250	114-179 dias	Redução na massa seca	Goiás, Brasil	Cobucci et al. (1998)
	acifluorfen	170	96-139 dias	Redução na massa seca	Goiás, Brasil	Cobucci et al. (1998)
	imazamox	40	78-139 dias	Redução na massa seca	Goiás, Brasil	Cobucci et al. (1998)
	sulfentrazone	100	115 dias	Intoxicação, redução na massa seca e produtividade	Goiás, Brasil	Dan et al. (2010)
	diclosulan	35	115 dias	Intoxicação, redução na massa seca e produtividade	Goiás, Brasil	Dan et al. (2010)
	imazethapyr	100	115 dias	Intoxicação, redução na massa seca e produtividade	Goiás, Brasil	Dan et al. (2010)

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 2.** Efeito residual de herbicidas em olerícolas.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Alho</b>	metribuzin	6 a 480	Plantio logo após a aplicação	Intoxicação	Minas Gerais, Brasil	Walperes et al. (2015)
<b>Batata</b>	cloransulam-methyl	44, 88 e 176	Um ano	Intoxicação e redução de produtividade	Ohio, EUA	Felix et al. (2002)
	imazethaphyr	260, 520 e 1050	Um e dois anos	Intoxicação	Idaho, EUA	Joo et al. (2001)
	flumetsulam + clopyralid	39 + 105 e 155 + 420	329 a 337 dias	Intoxicação e redução de produtividade	Minnesota, Ohio e Wisconsin, EUA	Felix et al. (2005)
	clopyralid	210				
	flumetsulam	140	Um ano	Intoxicação e redução de produtividade	Ontario, EUA	O' Sullivan et al. (1999)
	aminopyralid	8 a 123	Um mês	Redução da massa fresca de tubérculos	Alasca, EUA	Seefeldt et al. (2013)
	sulfometuron	240, 480 e 960 ng kg <sup>-1</sup>	Plantio logo após a aplicação	Intoxicação, redução de produtividade, deformações, rachaduras e dobras	Idaho, EUA	Hutchinson et al. (2007)
	clopyralid e dicamba	35 a 560	Um mês	Intoxicação	Alasca, EUA	Seefeldt et al. (2014)
quinclorac	150 a 300	Um ano	Intoxicação	Alberta, Canadá	Moyer et al. (1999)	
tembotrione	8,4 a 50,4	Um dia	Redução de crescimento, de produtividade e na qualidade dos tubérculos	Minas Gerais, Brasil	Dias et al. (2015ab)	

Continua...

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 2 (Continuação).** Efeito residual de herbicidas em olerícolas.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Batata doce e repolho</b>	sulfentrazone	840	Um ano	Intoxicação e redução da produtividade	Carolina do Norte, EUA	Pekarek et al. (2010)
<b>Batata, tomate e repolho</b>	imazethapyr	100 e 200	Um e dois anos	Intoxicação e redução de produtividade	Ontário, Canadá	O' Sullivan et al. (1998)
<b>Beterraba, alfaça e ervilha</b>	imazapyr + imazapic; imazapyr + imazethapyr	39,9 + 119,7 39,9 + 119,7	140 dias	Redução de produtividade e peso fresco	Santiago, Chile	Alister & Kogan (2005)
<b>Beterraba, ervilha, pepino</b>	mesotrione	70 a 560	Um ano	Intoxicação, redução de produtividade	Ontário, Canadá	Riddle et al. (2013)
<b>Beterraba, ervilha, pepino</b>	mesotrione	7 a 56	Plantio logo após a aplicação	Intoxicação, redução de produtividade	Ontário, Canadá	Riddle et al. (2013)
<b>Cebola</b>	metribuzin	240 a 480	Plantio logo após a aplicação	Intoxicação, redução de matéria seca da parte aérea e morte das plantas	Minas Gerais, Brasil	Walperes et al. (2015)
<b>Cenoura, brócolis, pepino e cebola</b>	mesotrione; atrazine; mesotrione + atrazine	140 560 140 + 560	Um ano	Intoxicação, redução de matéria seca da parte aérea e de produtividade	Ontário, Canadá	Robinson (2008)

Continua...

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 2 (Continuação).** Efeito residual de herbicidas em olerícolas.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Cebola, beterraba e alfafa</b>	imazosulfuron	224 e 450	Dois anos	Redução de produtividade	Oregon, EUA	Felix et al. (2012)
<b>Cebola verde, beterraba, alface, espinafre, cenoura e brócolis</b>	imazosulfuron	224 a 450	Dois anos	Intoxicação, redução do estande e do peso fresco	Califórnia, EUA	Felix et al. (2012)
<b>Cebola, pimentão, tomate, melancia e abóbora</b>	sulfentrazone	840	Um ano	Intoxicação	Carolina do Norte, EUA	Pekarek et al. (2010)
<b>Cenoura, repolho, pepino, cebola, pimenta e beterraba</b>	saflufenacil	100 e 200	Um ano	Redução no crescimento, no rendimento e na qualidade	Ontário, Canadá	Robinson & Mcnaughton (2012)
<b>Pepino</b>	nicosulfuron nicosulfuron + atrazine	60 30 + 1500	7, 15 e 30 dias	Intoxicação e redução de altura de plantas no florescimento	Mato Grosso do Sul, Brasil	Carvalho et al. (2010)

Continua...

## A Química na Produção Vegetal

**Tabela 2 (Continuação).** Efeito residual de herbicidas em olerícolas.

Cultura sucessora	Herbicida	Dose (g ha <sup>-1</sup> i.a.)	Tempo decorrido da aplicação	Efeitos	Local	Referência
<b>Pimenta, tomate e melão</b>	imazapyr + imazapic; imazapyr + imazethapyr	39,9 + 119,7 39,9 + 119,7	300 dias	Redução de produtividade e peso fresco	Chile	Alister & Kogan (2005)
<b>Pimentão</b>	isoxaflutole	210	Um ano	Redução de produtividade	Ohio, EUA	Felix & Doohan (2005)
<b>Repolho</b>	flumetsulam	70 e 140	Um, dois e três anos	Intoxicação e redução de produtividade	Ontario, EUA	O' Sullivan et al. (1999)
<b>Repolho e abóbora</b>	flumetsulam + metolachlor	224 + 8400	Um ano	Intoxicação e redução de produtividade	Dakota do Norte, EUA	Greenland (2003)
<b>Repolho e beterraba</b>	isoxaflutole isoxaflutole + atrazine	105 e 210 105 + 1063 e 210 + 2126	Um ano	Redução da matéria seca de parte aérea e produtividade	Ontário, Canadá	Soltani et al. (2005)
<b>Repolho e cebola</b>	nicosulfuron	140	Um ano	Intoxicação. Redução de produtividade somente da cebola	Dakota do Norte, EUA	Greenlad (2003)
<b>Repolho, cebola e tomate</b>	imazethapyr	280	Um ano	Intoxicação. Redução de produtividade somente do tomate	Dakota do Norte, EUA	Greenlad (2003)
<b>Tomate</b>	2,4-D e dicamba	1,14 e 2,28	90 dias	Epinastia, redução do vigor das plantas e de produtividade	Florida, EUA	Gilreath et al. (2006)
<b>Tomate e rabanete</b>	imazethapyr + imazapic	100 e 200	1100 dias	Reduções de altura, de matéria seca da parte aérea e de raiz	Rio Grande do Sul, Brasil	Sousa et al. (2012)
<b>Tomate, pimentão e pepino</b>	mesotrione	210; 420 e 840	Um ano	Intoxicação e redução de produtividade	Ohio, EUA	Felix et al. (2007)

Fonte: Adaptado de Melo et al. (2016).

## *Métodos de análise de resíduos e comportamento de herbicidas no solo*

### *Bioensaio*

O método de bioensaio consiste na utilização de espécies vegetais sensíveis a baixíssimas quantidades de resíduos de herbicidas no solo, na ordem de ppb ou ppt. Como uma ferramenta auxiliar, o agricultor pode utilizar esse método para monitorar resíduos de herbicidas desde que possua o histórico de uso desses produtos na área e selecione as espécies bioindicadoras apropriadas, executando-o alguns meses antes para dar tempo de adequar à dinâmica da propriedade. Através dos sintomas de intoxicação e acúmulo de massa da matéria seca da parte aérea e raiz dessas espécies tem-se um indicativo da presença de contaminante no solo que pode ser relacionado ao histórico da área e aos mecanismos de ação dos herbicidas

A quantificação de resíduos de herbicidas no solo por esse método não é exata, sendo estimada de forma indireta com uso de curvas de dose-resposta. Os bioensaios vegetais são uma ferramenta útil na pesquisa e nos testes com solos, pelo fato dos bioensaios detectarem a quantidade de herbicida atualmente biodisponível no solo, enquanto as técnicas químicas são adequadas para a determinação da quantidade total de herbicida presente no solo (Szmigielski et al., 2014).



A identificação do herbicida, também não é possível por esse método de bioensaio, sendo necessária a utilização de outros métodos mais precisos. Condições ideais e padronizadas de crescimento das espécies bioindicadoras como temperatura, luminosidade, água e nutrientes no solo e umidade relativa são importantes para maior confiabilidade dos resultados. Apesar da menor exatidão e precisão por causa da falta de especificidade e variabilidade em resposta a espécies de vegetais e o tipo de solo, o método é relativamente simples e de baixo custo, exigindo conhecimento sobre fisiologia de plantas e sintomas de herbicidas. Estudos comportamentais de herbicidas no solo, como lixiviação, efeito residual e volatilização por esse método são comumente avaliados por pesquisadores da área da Ciência das Plantas Daninhas. Alguns herbicidas utilizados em baixas doses são detectados somente por esse método.

### *Espectrometria de cintilação líquida*

Conforme descrito na revisão de literatura de Mendes et al. (2017), a técnica de espectrometria de cintilação líquida (ECL) para análise de moléculas radiomarcadas é reconhecidamente a mais adequada na determinação da radiação de baixo poder de penetração, como a radiação  $\beta$ , emitida pelo  $^{14}\text{C}$ , pois apresenta boa sensibilidade e reprodutibilidade associadas a seus resultados analíticos. O uso de um padrão certificado do herbicida de interesse é

indicado para a calibração apropriada do equipamento de cintilação líquida (contador de cintilação).

Na cintilação líquida, a amostra radioativa é incorporada a uma solução cintiladora, que emite fótons de luz como resultado da interação entre as partículas  $\beta$  e as moléculas do solvente. A quantidade de luz produzida é diretamente proporcional à quantidade de energia perdida. Uma vez que as partículas  $\beta$  emitidas pelo  $^{14}\text{C}$  têm curto alcance em meios líquidos e perdem toda sua energia na solução cintiladora, a quantidade de luz produzida é proporcional à energia dessas partículas (L'Annunziata & Kessler, 2012). Os fótons de luz produzidos são captados por válvulas fotomultiplicadoras, e convertidos em pulsos elétricos. A contagem desses pulsos elétricos corresponde à contagem das radiações emitidas pela amostra. As medições de um contador de cintilação são dadas em contagens por minuto (cpm). O contador de cintilação também registra a taxa de desintegrações atômicas por unidade de tempo, dado em dpm (desintegrações por minuto). Assim, 1 dpm equivale ao número de átomos que tem desintegrados em 1 min, e não o número de átomos registrados como desintegrados (dpm) (Knoll, 2000). A unidade internacional de radioatividade é Bequerel (Bq) e a relação entre esta e dpm e cpm é dada a seguir:

$$1 \text{ Bq} = 1 \text{ dpm} = 60 \text{ cpm} \quad (14)$$

Para os tipos de estudos abordados neste capítulo, a solução cintiladora é mantida dentro de pequenos recipientes, conhecidos como frascos (*vials*) de cintilação. Existem coquetéis de cintilação à base de solventes, tais como: di-isopropil-naftaleno (DIN), tolueno e xileno (Oliveira, 2014). No entanto, a escolha do solvente depende fundamentalmente das características químicas da amostra a ser medida. Soluções cintiladoras que contêm solventes não biodegradáveis tais como o tolueno, devem ser tratadas como rejeito não só radioativo, como também químico, e receber destinação apropriada de acordo com o plano de gerência de rejeitos existente em cada laboratório.

Para a quantificação do herbicida lixiviado ou resíduo ligado (não extraído por solvente no processo de biodegradação), o principal objetivo da preparação de amostras é a obtenção de uma solução homogênea e estável que seja apropriada para análise por ECL. Amostras de solo não são prontamente solúveis nos coquetéis de cintilação. Por conta disso, tais amostras passam por uma combustão biológica em equipamentos chamados oxidadores (oxidizers). A combustão da amostra gera uma atmosfera rica em hidrogênio, que é oxidado a água, enquanto que todo carbono é oxidado a gás carbônico contendo o  $^{14}\text{C}$  ( $^{14}\text{CO}_2$ ). Um coquetel cintilador apropriado é misturado com o produto resultante da combustão para leitura em um contador de cintilação (L'Annunziata, 2012).

## *Cromatografia líquida, a gás e de camada delgada*

Muitas técnicas em cromatografia estão disponíveis para a determinação e separação de uma série de compostos em misturas, e a escolha de cada técnica depende de diversos fatores, incluindo o objetivo do estudo, características da amostra e propriedades físico-químicas do herbicida estudado (Vuckovic, 2012). Atualmente, nos estudos de degradação metabólica de herbicidas o uso da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE, em inglês: *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) é amplamente utilizada e citada na literatura científica. A técnica de HPLC tem como objetivo separar e analisar compostos não voláteis ou termo sensíveis, sendo ideal para a separação de compostos químicos e biológicos que são não voláteis. Se um composto é volátil, a técnica de separação mais indicada é a cromatografia a gás (CG).

A identificação de compostos individuais através de HPLC fornece informação tanto quantitativa como qualitativa. A análise quantitativa é feita pela determinação da altura do pico, a partir de sua base, no cromatograma ou pela determinação da área de tal pico. Na análise qualitativa, a identificação de compostos é informada pelo tempo de retenção, ou dependendo do detector usado, tal informação é baseada em outros parâmetros, incluindo estrutura e peso molecular. Outro uso importante do HPLC em estudos ambientais é análise de traço, onde o

composto de interesse ocorre em concentrações muito baixas. Para isso, separações de alta resolução e detectores muito sensíveis são necessários. A purificação de compostos também pode ser alcançada com o uso de HPLC através da coleta de picos cromatográficos na saída do detector e subsequente concentração do composto, removendo-se ou evaporando-se o solvente.

Tecnologias de detecção de radioatividade em HPLC foram sendo desenvolvidas ao longo do tempo, incluindo monitores de fluxo, coletas de fração para contagem de cintilação líquida e contagem de átomos de  $^{14}\text{C}$  por laser. Para amostras de baixas concentrações de radioatividade, como no caso de estudos de absorção, translocação e metabolismo em plantas, monitores online de radioisótopos têm sido predominantemente usados por apresentar maior custo-benefício comparado aos métodos *off-line*. A escolha adequada da coluna, da fase móvel e do tipo de detector são os fatores mais importantes para que a técnica de HPLC seja bem sucedida em estudos com herbicidas radiomarcados.

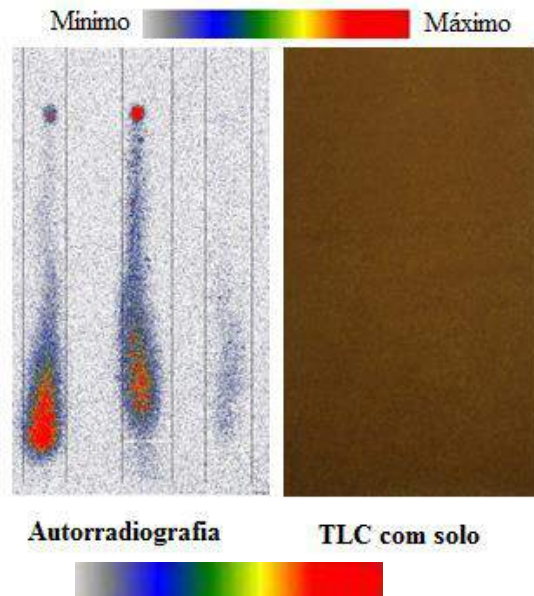
A técnica de cromatografia de camada delgada (TLC - *Thin Layer Chromatography*) também pode ser utilizada em estudos ambientais e de degradação metabólica de herbicidas no solo. A técnica de TLC complementa as técnicas de CG e HPLC para separação, detecção, identificação e quantificação de pesticidas devido a vantagens únicas comparadas à cromatografia em coluna, incluindo: simplicidade de

preparo de amostras e de operação, além do baixo custo (Sharma, 2005).

Na técnica de TLC, os sobrenadantes resultantes da preparação das plantas tratadas e não tratadas não são injetados em colunas, como na técnica de HPLC. Os sobrenadantes são evaporados e redissolvidos em solvente apropriado. Tal solução contendo o herbicida radiomarcado e seus metabólitos (se houver) é aplicada em placas de TLC com o uso de micro seringa, através do uso de uma fase móvel escolhida (geralmente água) de acordo com a molécula estudada. O movimento unidirecional ascendente em fluxo capilar na placa de TLC no interior de uma cuba de vidro tampada contendo um volume relativamente grande da fase móvel é a técnica mais usada em TLC para herbicidas em geral (Fried e Sharma, 1999). A metodologia foi estabelecida conforme a "Environmental Protection Agency – EPA" na diretriz "Soil thin layer chromatography" (EPA, 1998).

As zonas contendo radioatividade são detectadas através da leitura da placa de TLC em digitalizadores de placa de fósforo (*Radio Scanner*) ou de filme radiográfico conforme a Figura 6, e a natureza química dos componentes é identificada pela comparação entre seus valores de fator de retenção (*R<sub>f</sub>*) e os de seus padrões analíticos. A sigla *R<sub>f</sub>* vem do inglês "*Retention Factor*", e seu valor é definido como a razão entre a distância caminhada pelo herbicida e a distância caminhada pelo solvente. Por exemplo, se um herbicida caminha 2,4 cm em uma placa de TLC e

o solvente percorre 3,2 cm, o  $R_f$  é 0,75. Uma vez que manter as condições experimentais constantes é um desafio, valores relativos de  $R_f$  são geralmente considerados nos estudos utilizando TLC. Valores relativos de  $R_f$  são assim chamados porque o valor de  $R_f$  do herbicida estudado é baseado no valor de  $R_f$  de seu padrão analítico (aplica-se o padrão analítico do herbicida e a amostra a ser estudada na mesma placa de TLC para fins de comparação dos valores de  $R_f$ s) (EPA, 1998).



**Figura 6.** Visualização da mobilidade de três herbicidas lixiviáveis:  $^{14}\text{C}$ -quinclorac (esquerda),  $^{14}\text{C}$ -metribuzin (meio),  $^{14}\text{C}$ -hexazinone (direita) em placas de TLC com solo de textura argila-arenosa. Fonte: Autores, Lab. de Ecotoxicologia, CENA/USP.

Além da comparação entre valores de  $R_f$ , as zonas de herbicidas na placa de TLC podem ser identificadas em luz visível como zonas coloridas ou

em luz ultravioleta de comprimento de onda de 366nm como zonas fluorescentes em seus estados naturais, ou após derivação pós-cromatográfica com um reagente cromogênico ou fluorogênico aplicado na placa de TLC (Bauer et al., 1991).

No caso de moléculas simples, a confirmação da identidade dos compostos presentes na amostra pode ser obtida através da produção e interpretação dos espectros de emissão ou absorção de radiações eletromagnéticas pelos compostos presentes na placa. Esta técnica denomina-se espectroscopia, que pode ser realizada através de diversos métodos, como infravermelho, ultravioleta, fluorescência, raios-X, visível, entre outros (Sherma, 2005). Para identificar a identidade de moléculas mais complexas presentes em uma amostra, o uso da espectrometria de massa é a técnica indicada, pois se baseia na determinação das massas atômicas, fornecendo informações sobre a estrutura de tais moléculas. A purificação de compostos também é realizada por TLC, através de raspagem da região representada pelo composto na placa de TLC e dissolução da raspagem em solvente apropriado.

### *Estratégias de minimizar os resíduos de herbicidas no solo*

A utilização de herbicidas que apresentem residual no solo é justificada pela viabilidade do controle efetivo de plantas daninhas por um período de tempo maior, diminuindo dessa maneira o número



de aplicações. Entretanto, estes produtos podem causar toxicidade em culturas cultivadas em sucessão. Além disso, há o impacto ambiental negativo ocasionado por essas moléculas e/ou metabólitos através da lixiviação, podendo atingir lençóis subterrâneos ou se moverem para outros ambientes com possibilidade de contaminação de outros ecossistemas.

Dentre os principais componentes para a redução do efeito residual em áreas cultivadas destaca-se o uso do Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD). Assim, na prática deve-se considerar a importância na identificação de plantas daninhas e as diversas ferramentas de manejo. Ademais, o planejamento da sucessão/rotação de culturas, a compreensão sobre o comportamento dos herbicidas no solo em função das características do clima, solo, e do próprio herbicida é de suma importância a fim de evitar o problema residual de herbicidas.

Paralelamente aos itens citados, a utilização da fitorremediação tem-se mostrado uma técnica promissora na redução da persistência no ambiente de diversos herbicidas (Procópio et al., 2009). Essa linha de estudo tem alcançado êxito com espécies que, além de acelerarem a redução dos níveis dos compostos no solo, resultam em benefícios agrícolas adicionais, como adubos verdes e forrageiras (Pires et al., 2003). Diversos trabalhos apontam a eficiência dessas espécies na remediação de herbicidas como tebuthiuron (Pires et al., 2005, 2006), trifloxysulfuron sodium (Santos et al., 2004), picloram (Procópio et al.,

2008), sulfentrazone (Belo et al., 2011; Madalão et al., 2012), diclosulam (Monquero et al., 2013) e imidazolinonas (imazethapyr + imazapic e imazapyr + imazapic) (Galon et al., 2014).

O emprego da fitorremediação é caracterizado pela seletividade, natural ou desenvolvida, que algumas espécies exibem a determinados tipos de compostos ou mecanismos de ação. Essa seletividade está relacionada ao fato de que os herbicidas podem ser translocados para outros tecidos da planta e subsequentemente volatilizados; podem ainda sofrer parcial ou completa degradação; serem transformados em compostos menos tóxicos ou serem combinados e, ou ligados a tecidos das plantas (compartimentalização) (Accioly & Siqueira, 2000; Scramin et al., 2001).

Assim, a eficiência do processo de remediação é assegurada quando a fitoextração seguida da fitotransformação, resulta na mineralização ou na formação de metabólitos não tóxicos ou menos tóxicos que a molécula original. Tal resultado é desejável especialmente em áreas agrícolas que envolvam culturas importantes e sensíveis no sistema de sucessão/rotação.

Também, a técnica de biorremediação apresenta potencial de uso e consiste na utilização de processo ou atividade biológica por meio de microrganismos que possuam a capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes, transformando-os em substâncias menos tóxicas ou inertes (Jacques et al., 2010). A molécula herbicida

pode ser utilizada pelos microrganismos como fonte de nutriente e energia. Entretanto, a estrutura química do produto pode ser modificada pela microbiota sem obtenção de energia para o seu crescimento, o que caracteriza o cometabolismo. Bactérias e fungos são considerados os principais responsáveis pela transformação dos herbicidas no solo (Oliveira Jr. & Regitano, 2009).

Vários estudos têm demonstrado a diversidade e potencial degradativo dos microrganismos, que podem ser empregados na remediação de solos com herbicidas. A degradação de atrazine por *Pseudomonas sp.* (Katz et al., 2001), *Rhodococcus rhodochrous* (Singh et al., 2004), *Aerobacterium sp.*, *Microbacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Deinococcus sp.* ou *Delftia acidovorans* (Vargha et al., 2005). Já para a degradação do s-metolachlor foi detectada por diversas espécies de bactérias identificadas como *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Enterobacter aerogenes* (Martins et al., 2007). Bactérias como *Nocardia brasiliensis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Rhizobium radiobacter*, *Ralstonia picketti* e *Methylobacterium radiotolerans* e fungos pertencem aos gêneros *Cladosporium*, *Eupenicillium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Chrysosporium* e *Metarrhizium* degradam sulfentrazone (Martinez et al., 2008a; 2008b; 2010). Bactérias e fungos capazes de utilizar diuron e 2,4-D como fonte de carbono, respectivamente, também foram isolados de solos

contaminados com estes herbicidas (Dellamatrice & Monteiro, 2004; Silva et al., 2007b).

Assim, o sucesso nas estratégias para a descontaminação de áreas tratadas por herbicidas depende do conhecimento teórico das propriedades dos compostos, fatores climáticos envolvidos, da planta e dos mecanismos de interação herbicida-ambiente-planta. Por outro lado, a fito/biorremediação surgem como opções para o tratamento eficiente de solo contaminado por herbicidas.

### *Considerações finais*

O conhecimento das propriedades físico-químicas dos herbicidas é fundamental para estudar o comportamento e destino ambiental destas moléculas e primordial na escolha do método de análise de resíduos no solo. Existe necessidade de maior divulgação na comunidade científica ligada à área de poluição do solo com relação ao uso de métodos de análises nos estudos de transformação, transporte e retenção de herbicidas no solo, principalmente em condições brasileiras. Nesse capítulo, têm sido propostas diferentes métodos de análise de resíduos e discutido sobre o comportamento dos herbicidas no solo visando contribuir para esta necessidade.

## Referências

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.V.H.; SCHAEFER, C. E.G.R. (Ed.). **Tópicos em Ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-352.

ARTUZI, J.P.; CONTIERO, R.L. Herbicidas aplicados na soja e produtividade do milho em sucessão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1119-1123, 2006.

ALONSO, D.G.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; KOSKINEN, W.C.; OLIVEIRA NETO, A.M.; DAN, H.A.; GUERRA, N. Carryover potencial of herbicides used for *Conyza* sp. control. In: **Proceedings of 2011 Weed Science Society of America Annual Meeting**. Portland, USA: Weed Science Society of America, p. s.p., 2011.

BAUER K.; GROS, L.; WERNER, S. **Thin layer chromatography – An introduction**. Heidelberg: Huthig. 1991, 66 p.

BEDMAR, F.; GIANELLI, V. Comportamiento de los herbicidas em el suelo. In: FERNÁNDEZ, O.A.; LEGUIZAMÓN, E.S.; ACCIARESI, H.A. (Ed.). **Malezas e invasoras de la Argentina: ecología y manejo**. Bahía Blanca: Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Ediuns, v. 1, 2014, p. 361-390.

BELO, F.A.; COELHO, A.T.C.P.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com

sulfentrazone. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, p. 821-828, 2011.

BINET, F.; KERSANT E, A.; MUNIER-LAMY, C.; LE BAYON, R.-C.; BELGY, M.-J.; SHIPITALO, M.J. Lumbricid macro-fauna alter atrazine mineralization and sorption in a silt loam soil. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 38, n. 6, p. 1255–1263, 2006.

BURROWS, H.D.; SANTABALLA, J.A.; STEENKEN, S. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 67, n. 2, p. 71-108, 2002.

CARTER, A.D. Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes. **Weed Research**, v. 40, n. 1, p. 113-122, 2000.

CARVALHO, F. T.; MORETTI, T. B.; SOUZA, P. A. Efeito do residual no solo de nicosulfuron isolado e em mistura com atrazine sobre culturas agrícolas subsequentes. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 9, n. 1. p. 26-34, 2010.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; DAMIN, V.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2. 2008, 85 p.

CIÉSLA, P.; KOCOT, P.; MYTYCH, P.; STASICKA, Z. Homogeneous photocatalysis by transition metal complexes in the environment. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 224, n. 1-2, p. 17-33, 2004.

COBUCCI, T.; PRATES, H.T.; FALCÃO, C.L.; REZENDE, M.M. Effect of imazamox, fomesafen, and

acifluorfen soil residue on rotational crops. **Weed Science**, v. 46, n. 2, p. 258-263, 1998.

CONTE, L.O.; QUERINI, P.; ALBIZATTI, E.D.; ALFANO, O.M. Photonic and quantum efficiencies for the homogeneous photo-Fenton degradation of herbicide 2,4-D using different iron complexes. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, n. 12, p. 1967-1974, 2014.

CYCON, M.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Transformations of pesticides in soil environment - a review. **Pestycydy**, v. 3, n. 4, p. 45-56, 2006.

DAN, H.A.; DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA, J.R.; SILVA, A.G.; LIMA, M.D.B.; FELDKIRCHER, C. Residual activity of herbicides used in soybean agriculture on grain sorghum crop succession. **Planta Daninha**, v. 28, p. 1087-1095, 2010.

DAN, H.A.; DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA, J.R.; ASSIS, R.L.; SILVA, A.G.; FELDKIRCHER, C. Atividade residual de herbicidas pré-emergentes aplicados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 437-445, 2011.

DAN, H.A.; DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA, J.R.; BRAZ, G.B.P.; ALONSO, D.G. Atividade residual de herbicidas usados na soja sobre o girassol cultivado em sucessão. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1929-1935, 2012.

DELLAMATRICE, P.M.; MONTEIRO, R.T.R.; Isolation of diuron-degrading bacteria from treated Soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 999-1003, 2004.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA.  
**Fate. transport and transformation test guidelines**  
- OPPTS 835.1210 Soil thin layer chromatography.  
Washington: EPA. 1998, 6 p.

FERRELL, J.A.; WITT, W.W.; VENCILL, W.K.  
Sulfentrazone absorption by plant roots increases as  
soil or solution pH decreases. **Weed Science**, v. 51, n.  
5, p. 826-830, 2003.

FREUNDLICH, H. Uber die adsorption in  
losungen. **Journal of Physical Chemistry**, v. 57, p.  
385-470, 1907.

FRIED, B.; SHARMA, J. **Thin-Layer  
Chromatography**. New York: Marcel Dekker Inc. 1999,  
499 p.

GALON, L.; LIMA, A.M.; GUIMARÃES, S.;  
BELARMINO, J.G.; BURG, G. M.; CONCENÇO, G.;  
BASTIANI, M.O.; BEUTLER, A.N.; ZANDONA, R.;  
RADÜNZ, A.L. Potential of plant species for  
bioremediation of soils applied with imidazolinone  
herbicides. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 719-726,  
2014.

GHENO, E.A.; OLIVEIRA JUNIOR, R.S.D.;  
CONSTANTIN, J.; TAKANO, H.K.; GEMELLI, A. Residual  
activity of herbicides applied to cotton on crops  
cultivated in succession. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 1,  
p. 143-152, 2016.

GOI, A. **Advanced oxidation processes for  
water purification and soil remediation**. Thesis  
(Chemistry and Chemical Engineering) – Tallinn  
University of Technology, Tallinn/Estonia, p. 128. 2005.



ILIEVA, A.; VASILEVA, V. Effect of presowing treatment of seeds with insecticides on parameters related to nodulation and nitrate reduction in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Journal of Central European Agriculture**, v. 15, p. 23-32, 2014.

JACQUES, R.J.S.; SILVA, K.J.; BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 280-287, 2010.

JOHNSON, D.H.; TALBERT, R.E.; HORTON, D.R. Carryover potential of imazaquin to cotton, grain sorghum, wheat, rice, and corn. **Weed Science**, v. 43, n. 3, p. 454-460, 1995.

KATZ, I.; DOSORETZ, C.G.; MANDELBAUM, R.T.; GREEN, M. Atrazine degradation under denitrifying conditions in continuous culture of *Pseudomonas* ADP. **Water Research**, v. 35, n. 13, p. 3272-3275, 2001.

KNOLL, G.F. **Radiation detection and measurement**. 3<sup>rd</sup> edition, New York: John Wiley. 2000, 860 p.

KORTE, F.; KONSTANTINOVA, T.; MANSOUR, M.; ILIEVA, P.; BOGDANOVA, A. On the photodegradation of some unsaturated triazine derivatives with herbicide and bactericide activity. **Chemosphere**, v. 35, n. 1, p. 51-54, 1997.

L'ANNUNZIATA, M.F. **Handbook of radioactivity analysis**. 3<sup>rd</sup> edition. San Diego: Academic Press. 2012, 1379 p.

L'ANNUNZIATA, M.F.; KESSLER, M.J. Liquid Scintillation Analysis: Principles and Practice. In:

L'ANNUNZIATA, M.F. (Ed.) **Handbook of radioactivity analysis**. 3<sup>rd</sup> edition. San Diego: Academic Press, 2012. p. 423-573.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**. v. 40, n. 9, p. 1361-1403, 1918.

LAABS, V.; AMELUNG, W.; PINTO, A.; ALTSTAEDT, A.; ZECH, W. Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, n. 1, p. 256–268, 2002.

LE PERSON, A.; SIAMPIRINGUE, M.; SARAKHA, M.; MONCOMBLE, A.; CORNARD, J. The photodegradation of mesotrione, a triketone herbicide, in the presence of Cu<sup>II</sup> ions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 315, n. 15, p. 76-86, 2016.

LI, J.; HU, J.; XU, W.; LING, M.; YAO, J. Hydrolysis reaction mechanism in atrazine metabolism and prediction of its metabolites' toxicities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 21, p. 4852–4863, 2014.

LIN, Y.J.; LIN, C.; YEH, K.J.; LEE, A. Photodegradation of the herbicides butachlor and ronstar using natural sunlight and diethylamine. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 6, p. 780-785, 2000.

LINDE, C.D. **Physico-chemical properties and environmental fate of pesticides**. Sacramento: Dept. of Pesticide Regulation. Environmental Monitoring and Pest Management Branch. California

Environmental Protection Agency Environmental Hazards Assessment Program. 1994, 53 p.

MADALÃO, J.C.; PIRES, F.R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; CHAGAS, K.; NASCIMENTO, A.F.; GARCIA, G.O. Fitorremediação de solos contaminados com o herbicida sulfentrazone por espécies de adubos verdes. **Revista Ciência Agrária**, v. 55, n. 4, p. 288-296, 2012.

MAIN, C.L.; MUELLER, T.C.; HAYES, R.M.; WILCUT, J.W.; PEEPER, T.F.; TALBERT, R.E.; WITT, W.W. Sulfentrazone persistence in Southern soils: Bioavailable concentration and effect on a rotational cotton crop. **Weed Technology**, v. 18, n. 2, p. 346-352, 2004.

MANCUSO, M.A.C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo ("Carryover"). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MARTINS, P.F.; MARTINEZ, C.O.; CARVALHO, G.; CARNEIRO, P.I.B.; AZEVEDO, R.A.; PILEGGI, S.A.V.; MELO, I.S.; PILEGGI, M. Selection of microorganisms degrading S-Metolachlor herbicide. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 153-159, 2007.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; ABAKERLI, R.B.; MAIA, A.H.N.; DURRANT, L.R. Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian Typic Hapludox soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 879-886, 2008a.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; ABAKERLI, R.B.; MAIA, A.H.N.; DURRANT, L.R. The

effects of moisture and temperature on the degradation of sulfentrazone. **Geoderma**, v. 147, p. 56-62, 2008b.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; MAIA, A.H.N.; ABAKERLY, R.B.; DURRANT, L.R. Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian Typic Hapludox soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 879-886, 2008c.

MELO, C.A.D.; DIAS, R.C.; MENDES, K.F.; ASSIS, A.C.D.L.P.; DOS REIS, M.R. Carryover de herbicidas em sistemas cultivados com olerícolas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 1, p. 67-78, 2016.

MENDES, K.F.; MARTINS, B.A.B.; REIS, F.C.; DIAS, A.C.R.; TORNISIELO, V.L. Methodologies to study the behavior of herbicides on plants and the soil using radioisotopes. **Planta Daninha**, 2017. (no prelo)

MENDES, K.F.; REIS, M.R.; PEREIRA, A.A.; NUNES, A.R.S.; SANTOS, C.E.M.; ASSIS, A.C.L.P. Sorption of oxadiazon in soils cultivated in the brazilian cerrado. **Planta Daninha**, v. 32, n.1, p. 215-225, 2014.

MERMANA, J.; SUTTHIVAIYAKIT, P.; BLAISE, C.; GAGNÉ, F.; CHARNSETHIKUL, S.; KIDKHUNTHOD, P.; SUTTHIVAIYAKIT, S. Photocatalysis of S-metolachlor in aqueous suspension of magnetic cerium-doped mTiO<sub>2</sub> core-shell under simulated solar light. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 4077-4092, 2017.

MONQUERO, P.A.; CÔRREA, M.C.; BARBOSA, L.N.; GUTIERREZ, A.; ORZARI, I.; HIRATA, A.C.S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à

fitorremediação de diclosulam. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 127-135, 2013.

MUDHOO, A.; GARG, V.K. Sorption, transport and transformation of atrazine in soils, mineral and composts: a review. **Pedosphere**, v. 21, n. 1, p. 11-25, 2011.

NITISAKULKAN, T.; OKU, S.; KUDO, D.; NAKASHIMADA, Y.; TAJIMA, T.; VANGNAI, A.S.; JUNICHI, K. Degradation of chloroanilines by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida* T57. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 3, p. 292-297, 2014.

OLIVEIRA JR.R.S.; REGITANO, J.B. Dinâmica de pesticidas no solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, L.R.F. (Eds.). **Química e mineralogia do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009, p. 187-241.

OLIVEIRA, M.F. Comportamento de Herbicidas no Ambiente. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, Porto Alegre, RS. 2001, 362 p.

OLIVEIRA, C.R. **Termodinâmica de adsorção de compostos fenólicos e azocorantes em nanotubos de carbono**. Dissertação (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, p. 57. 2012.

OLIVEIRA, T. C. **Estabelecimento de metodologia para determinação de <sup>93</sup>Zr em rejeitos radioativos por espectrometria de cintilação líquida (LSC) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)**.

Tese (Doutorado em Ciências e Técnicas Nucleares) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, p. 109. 2014.

ORGE, C.A.; PEREIRA, M.F.R.; FARIA, J.L. Photocatalytic-assisted ozone degradation of metolachlor aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v. 318, p. 247-253, 2017.

PEKAREK, R.A.; GARVEY, P.V.; MONKS, D.W.; JENNINGS, K.M.; MACRAE, A.W. Sulfentrazone carryover to vegetables and cotton. **Weed Technology**, v. 21, n. 1, p. 20-24, 2010.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados por herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; CECON, P.R.; SANTOS, J.B.; TOTOLA, M.R.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; SILVA, C.S.W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627-634, 2005.

PIRES, F.R.; PROCÓPIO, S.O.; SOUZA, C.M.; SANTOS, J.B.; SILVA, G.P. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.

PRITAM, G.; RANJAN, B.S.; CHIRANJIT, K.; ARNAB, G.; ANJAN, B. Dissipation kinetics of diclosulam 84% WG in water at different pH levels. **Pesticide Research Journal**, v. 28, n. 1, p. 113-115, 2016.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; CARGNELUTTI, F.A. Development of bean plants in soil contaminated with trifloxysulfuron-sodium after *Stizolobium aterrimum* and *Canavalia ensiformis* cultivation. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 87-96, 2007.

PROCÓPIO, S.O.; CARMO, M.L.; PIRES, F.R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BRAZ, G.B.P.; SILVA, W.F.P.; BARROSO, A.L.L.; SILVA, G.P.; CAMO, E.L.; BRAZ, A.J.B.P. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé- de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2517-2523, 2008.

PROCÓPIO, S.O.; PIRES, F.P.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009, 32 p.

PROSEN, H.; ZUPANČIČ-KRALJ, L. Evaluation of photolysis and hydrolysis of atrazine and its first degradation products in the presence of humic acids. **Environmental Pollution**, v. 133, n. 3, p. 517-529, 2005.

RALEBITSO-SENIOR, T.K.; SENIOR, E.; VAN VERSEVELD, H.W. Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. **Biodegradation**, v. 13, n. 1, p.11–19, 2002.

SAKKAS, V.A.; LAMBROPOULOU, D.A.; ALBANIS, T.A. Study of chlorothalonil photodegradation in natural waters and in the presence of humic substances. **Chemosphere**, v. 48, n.9, p. 939-945, 2002.

SAKELLARIDES, H.M.; SISKOS, M.G.; ALBANIS, T.A. Photodegradation of selected organophosphorous insecticides under sunlight in different natural waters and soils. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 33–50, 2003.

SANTOS, J.B.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; PIRES, F.R.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuronosodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 223-330, 2004.

SANTOS, G.; FRANCISCHINI, A.C.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA, J.R.R.S. *Carryover* proporcionado pelos herbicidas s-metolachlor e trifluralin nas culturas de feijão, milho e soja. **Planta Daninha**, v. 30, n. 4. p. 827-834, 2012.

SCHWARZENBACH, R.P. **Environmental organic chemistry**. New York: John Wiley & Sons. 1993, 681 p.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L.A.; MELO, I.S. Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas - Levantamento da flora existente em áreas e cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I.S.; SILVA, C.M.M.S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. **Biodegradação**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SHERMA, J. Thin-layer chromatography of pesticides - a review of applications for 2002–2004. **Acta Chromatographica**, n. 15, p. 5-30, 2005.

SILVA, A.A.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA Jr., R.S. Herbicidas: Comportamento no Solo. In: SILVA, A.A.;



SILVA, J.F (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. v.1, p.155-209a.

SILVA, T.M.; STETS, M.I.; MAZZETTO, A.M.; ANDRADE, F.D.; PILEGGI, S.A.V.; FÁVERO, P.R.; CANTÚ, M.D.; CARRILHO, E.; CARNEIRO, P.I B.; PILEGG, M. Degradation of 2,4-d herbicide by microorganisms isolated from Brazilian contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 522 - 525, 2007b.

SINGH P.; SURI C.R.; CAMEOTRA S.S. Isolation of a member of *Acinetobacter* species involved in atrazine degradation. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 317, n. 3, p. 697-702, 2004.

SOUZA, M.L.; WACKETT, L.P.; SADOWSKY, M.J. The atzABC genes encoding atrazine catabolism are located on a self-transmissible plasmid in *Pseudomonas* sp. strain ADP. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 6, p. 2323-2326, 1998.

SOUZA, D.R.; TROVÓ, A.G.; FILHO, N.R.A.; SILVA, M.A.A., MACHADO, A.E.H. Degradation of the commercial herbicide glyphosate by photo-fenton process: Evaluation of kinetic parameters and toxicity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 9, p. 1451-1460, 2013.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. 2<sup>rd</sup> edition. Upper Saddle River: Prentice Hall. 2005, 640 p.

ULBRICH, A.V.; RODRIGUES, B.N.; LIMA, J. Efeito residual dos herbicidas imazaquin e imazethapyr, aplicados na soja, sobre o milho safrinha. **Planta Daninha**, v. 16, n. 1, p. 137-147, 1998.

VARGHA, M.; TAKATS, Z.; MÁRIALIGETI, K. Degradation of atrazine in a laboratory scale model system with Danube river sediment. **Water Research**, v. 39, n. 8, p.1560-1568, 2005.

VUCKOVIC, D. Current trends and challenges in sample preparation for global metabolomics using liquid chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 403, n. 6, p. 1523–1548, 2012.

WALPERES, K.C.; REIS, M.R.; CARNEIRO, G.D.O.P.; ROCHA, B.H.; DIAS, R.C.; MELO, C.A.D.; GONÇALVES, C.G. Residual effect of metribuzin in the soil on the growth of garlic, onion and beans. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 1, p. 64-72, 2015.

WALSH, J.D.; DEFELICE, M.S.; SIMS, B.D. Soybean (*Glycine max*) herbicide carryover to grain and fiber crops. **Weed Technology**, v. 7, n. 3, p. 625-632, 1993.

WESTRA, E.P.; SHANER, D.L.; WESTRA, P.H.; CHAPMAN, P.L. Dissipation and leaching of pyroxasulfone and S-metolachlor. **Weed Technology**, v. 28, n. 1, p. 72-81. 2014.

ZHANG, L.H.; LI, P.J.; GONG, Z.Q.; ONI, A.A. Photochemical behaviour of benzo[a] pyrene on soil surfaces under UV light irradiation. **Journal of Environmental Sciences**. v.18, n. 6, p. 1226–1232, 2006.

ZHANG, Y.N.; DAI, W.; WEN, Y.; ZHAO, G. Efficient enantioselective degradation of the inactive (S)-herbicide dichlorprop on chiral molecular-imprinted TiO<sub>2</sub>. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 212, p. 185-192, 2017.

A Química é uma ciência fundamental para o avanço da Agronomia em inúmeras áreas de conhecimento, como, por exemplo, Fertilidade do solo, Fitossanidade, Tecnologia de Alimentos, Bioquímica e Genética. Com a evolução da nanotecnologia, da biologia molecular e de diversos métodos analíticos, essa importância torna-se ainda mais evidente.

Em 2017, o Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa – Campus Rio Paranaíba realizou o III Simpósio do Mestrado Acadêmico em conjunto com o Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química (UFV – Campus Rio Paranaíba). Essa iniciativa resultou no I Simpósio da Pós-Graduação da UFV – Campus Rio Paranaíba, com o tema “Química Aplicada à Produção Vegetal”.

A multidisciplinaridade do evento culminou em rico compartilhamento de conhecimentos e vivências. Com o objetivo de documentar parte dessa experiência, editamos este livro. Nesta obra, o leitor encontrará capítulos escritos por alguns palestrantes do simpósio, além de contribuições de docentes e discentes de Agronomia – Produção Vegetal e Química. Boa leitura!



#### Patrocinadores



Dow AgroSciences



#### Organização

