

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO DE MONOTERPENOS NO CONTROLE DE SITOPHILUS ZEAMAIIS

FABIANO A. S. OLIVEIRA¹, JACQUELINE A. TAKAHASHI², HÉLIO T. PRATES³ e JAMILTON P. SANTOS³.

¹Bolsista CNPq (Mestrado).

²Depto. Química, ICEX, UFMG.

³Embrapa Milho e Sorgo. Cx. Postal 151, 35701-970, Sete Lagoas, MG. E-mail:

htprates@cnpmc.embrapa.br.

Palavras-chave: química biotecnológica, pragas de grãos armazenados, produto natural

As medidas de controle de pragas de grãos armazenados tem se baseado em inseticidas sintéticos que apresentam riscos à saúde e ao meio ambiente. O interesse por alternativas para o controle de pragas através do desenvolvimento de novas técnicas ecologicamente mais recomendáveis, como por exemplo o controle biológico e os produtos naturais originados de plantas, se deve, em grande parte, ao fato de que essas substâncias permitem um tratamento eficaz sem comprometimento ecológico no tratamento de grãos, se comparadas aos inseticidas sintéticos.

Os produtos naturais provenientes de plantas podem ser de potencial interesse no combate a insetos, uma vez que o conhecimento sobre sua atividade biológica, revelada por um programa de triagem ("screening"), pode levar à sua aplicação no manejo de pragas diretamente o próprio produto natural ou seus análogos resultantes de modificações estruturais.

Nesse sentido, estudos realizados com os monoterpênicos 1,8-cineol e R-(+)-limoneno revelaram significativa atividade contra *Rhizopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais* e *Sitophilus oryzae*, pragas que causam vultuosos prejuízos à agricultura por atacarem grãos armazenados (Karr e Coats, 1988; Santos et al., 1997; Prates et al., 1998). Além disso, monoterpênicos como o cineol e o limoneno têm sido alvo de diversos estudos de modificação estrutural, tanto química quanto microbiana, nos quais um grande número de novos derivados monoterpênicos potencialmente ativos têm sido obtidos (Noma et al., 1992).

Transformações microbianas consistem na utilização de microrganismos ou partes destes para se efetuar uma modificação estrutural no esqueleto de moléculas orgânicas (Holland, 1992). Este tipo de reação tem se mostrado de significativa importância para a síntese de novos compostos de interesse biológico e/ou comercial, sendo uma técnica complementar que pode ter grande êxito em casos nos quais a química clássica não pode ser empregada (Hanson, 1995).

A literatura relata que a transformação microbiana pode ser realizada com qualquer tipo de substância orgânica: alcalóides, esteróides, substâncias graxas, saponinas, compostos fenólicos dentre outras (Wainwright, 1992). Estudos envolvendo produtos naturais abundantes na natureza são isolados de suas fontes naturais e incubados com diferentes microrganismos (Takahashi, 1994). Vários compostos inéditos, inacessíveis a partir de métodos sintéticos que utilizam reagentes puramente químicos, foram isolados a partir desses experimentos (Hanson et al., 1995; Boaventura et al., 1995).

A atividade inseticida do cineol e do limoneno revelada contra pragas de grãos armazenados abre perspectivas para novas pesquisas envolvendo transformações

microbianas, buscando-se aumentar a atividade inseticida sem alterar as suas características ecológicas, considerando-se que estas substâncias são inócuas à saúde humana, sendo, inclusive, constituintes muito utilizados na indústria de desinfetantes. Neste trabalho, foram utilizados diversos microrganismos para se realizar a conversão de cineol e limoneno em derivados mais ativos contra *S. zeamais*.

Para isso foram preparados, através de processos biotecnológicos, utilizando *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor plumbeus*, *Fusarium oxysporum* e G-3 (fungo não identificado), extratos contendo derivados do cineol e limoneno, os quais foram avaliados quanto à sua atividade biológica, como alternativa ao uso de inseticidas sintéticos no controle de *S. zeamais*.

Os processos de transformação microbiana, isolamento e caracterização de substâncias e /ou extratos foram realizados no Laboratório de Química Orgânica Biotecnológica do Depto. de Química da UFMG e no Laboratório de Agroquímica da Embrapa Milho e Sorgo. Os testes biológicos foram realizados no Laboratório de Pragas de Grãos Armazenados da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Os experimentos de biotransformação consistiram em 6 tratamentos, controle (acetona utilizada na solubilização dos extratos), testemunha (sem extrato), com três repetições, utilizando-se erlenmeyers de 500 mL, contendo 200 mL de cada meio de cultura. O microorganismo selecionado foi inoculado a partir de uma cepa estoque armazenada em tubo de ensaio em capela de fluxo laminar. Os frascos contendo o meio de cultura e o fungo foram então colocados em um agitador orbital para o desenvolvimento do microorganismo. Após o crescimento o substrato foi adicionado ao frasco de reação por um período de 6 a 14 dias. Em seguida, o conteúdo dos frascos para a separação do micélio foi filtrado, extraído com solvente orgânico (Tabela 1) e concentrada a fração orgânica. O extrato bruto foi então transferido para frasco de vidro e armazenado, a baixa temperatura, até o momento da realização dos testes.

A tabela.1 mostra as biotransformações realizadas. Os experimentos foram realizados segundo a metodologia descrita acima, a exceção do experimento FAB – 08, no qual o fungo, após incubado por 03 dias, teve seu micélio filtrado e lavado com água destilada autoclavada e, em seguida, transferido para um balão de 6 L contendo o meio de cultura B e o substrato. O procedimento de extração foi análogo aos demais.

A atividade dos extratos obtidos foi avaliada através do efeito de contato e ingestão através de aplicação tópica ventral e contato com grãos. Para isso, solução Do extrato a ser testado foi preparada à concentração de 20000 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. Foram aplicados 2 μL de cada extrato, utilizando-se micropipeta de 20 μL , em 10 grãos contidos frasco de vidro de 14 mL, onde foram incorporados 20 insetos. O frasco foi coberto na extremidade com tela fina para evitar que os insetos escapassem voando. Anotações de mortalidade (%) foram realizadas 48 h após o contato dos insetos com os grãos e a eficiência calculada segundo Abbott (1925) (Tabela 2).

A Tabela 2 mostra que os experimentos com FAB-02 e FAB-06 apresentaram melhores resultados. Embora a eficiência destes extratos seja ainda pequena (FAB-02 20% e FAB-06 5%), estas são superiores à eficiência dos substrato puro na mesma dosagem (os testes foram realizados com doses de 20 mg de extrato, tomando como base uma solução de 20 mg/mL. A dose de substrato puro aplicada de 19,67 mg de 1,8-Cineol apresentou mortalidade de 0%), portanto podemos considerar os satisfatórios, pois tratam-se de extratos brutos, ainda não purificados.

Tabela 1. Descrição das biotransformações realizadas. Embrapa Milho e Sorgo, 1999.

EXPERIMENTO	MICROORGANISMO (CEPA)	MEIO DE CULTURA*	PERÍODO DE CRESCIMENTO (DIAS)	SUBSTRATO	DURAÇÃO (DIAS)	SOLVENTE EXTRATOR
FAB-02	<i>Aspergillus niger</i> (NRRL4026)	A	2	1,8-Cineol	14	CH ₂ Cl ₂
FAB-03	<i>Aspergillus niger</i> (NRRL4026)	A	2	1,8-Cineol	07	CH ₂ Cl ₂
FAB-06	<i>Rhizopus stolonifer</i> (NRRL2002)	A	1	1,8-Cineol	14	CH ₂ Cl ₂
FAB-07	<i>Mucor plumbeus</i>	A	1	R-(+)-Limoneno	6	CH ₂ Cl ₂ e CHCl ₃
FAB-08	<i>Fusarium oxysporum</i>	A e B	3	R-(+)-Limoneno	11	CH ₂ Cl ₂ e CHCl ₃
FAB-09	G-3 (fungo não identificado)	A	2	R-(+)-Limoneno	11	CH ₂ Cl ₂ e CHCl ₃

Tabela 2 Avaliação da Eficiência de Mortalidade (%) dos Extratos contra *Sitophilus zeamais*.
Embrapa Milho e Sorgo, 1999.

Extratos	Eficiência (%) ¹
1 FAB - 02	20,00
2 FAB - 03	0
3 FAB - 06	5,00
4 FAB - 07	1,67
5 FAB - 08	0
6 FAB - 09	1,67
7 Controle (acetona)	0
8 Testemunha	0

(1) Abbott (1925)

LITERATURA CITADA

- ABBOT, W.S. J. **Econ. Entomol.** v.18, p.265, 1925.
- BOAVENTURA, M.A.D.; OLIVEIRA, A.B.; HANSON, J.R.; HITCHCOCK, P.B.;
TAKAHASHI, J.A. **Phytochemistry**, v.40, n.6, p.1667, 1995
- FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**, Springer-Verlag, London, 1992,
319p.
- FRAGA, B.M.; GONZÁLEZ, P.; GUILLERMO, R.; HANSON, J.R.; HERNÁNDEZ, M.G.;
TAKAHASHI, J.A. **Phytochemistry**, v.37, n.3, p. 717, 1994.
- KARR, L.L.; COATS, J.R. **Journal of Pesticide Science**, v.13, p.287, 1988.
- HANSON, J.R. **An introduction to biotransformations in organic chemistry**, Freeman,
Oxford, 1995.
- HANSON, J.R.; HITCHCOCK, P.B.; TAKAHASHI, J.A. **Phytochemistry**, v.40, n.3,
p.797, 1995
- HOLLAND, H.L. **Organic synthesis with oxidative enzymes**, VCH Publishers Inc.,

Cambridge, UK, 1992.

LOWE, D.A.; ELANDER, R.P. **Mycologia**, v.75, n.2, p.361, 1983.

NOMA, Y.; YAMASAKI, S.; ASAKAWA, Y. **Phytochemistry**, v.31, n.8, 1992

PRATES, H.T.; SANTOS, J.P.; WAQUIL, J.M.; FABRIS, J.D.; OLIVEIRA, A. B.;

FOSTER, J.E. **Journal of Stored Products Research**, v.34, n.4, p.243, 1998.

SANTOS, P. J.; PRATES, H. T.; WAQUIL, J. M.; OLIVEIRA, A. B. Avaliação de substâncias de origem vegetal no controle de pragas de grãos armazenados, Pesquisa em andamento, Embrapa, centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, **19**, 1997.

TAKAHASHI, J.A. **Estudo Fitoquímico de *Xylopiá frutescens* Aubl. e Transformações Microbianas de Cauranos, Afidicolanos e Estemodanos**. Tese de Doutorado, 363 pp, UFMG, Depto de Química, 1994.

WAINWRIGHT, M. **An introduction to fungal biotechnology**, Wiley & Sons, Chichester, UK, 1992.