

Composição química e toxicidade foliar de extratos do resíduo líquido de sisal

Milena Ferreira Costa¹; Juan Tomás Ayala Osuna¹; Hugo Neves Brandão¹; Mitsue Haraguchi²;
Carlos Alberto da Silva Ledo³

¹Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n - Bairro Novo Horizonte, CEP 44036-900, Feira de Santana, BA, Brasil. E-mails: mile.fcosta@gmail.com; juanayala@uol.com.br; hugohnb@gmail.com

²Centro de Sanidade Animal. Instituto Biológico. Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252 Vila Mariana, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: haraguchi@biologico.sp.gov.br

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical. Rua Embrapa, s/n CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Brasil. E-mail: ledoc@cpmpf.embrapa.br

Resumo: A presente pesquisa teve como objetivo realizar a triagem fitoquímica com o suco de sisal obtido por dois processos distintos, coletado nos anos de 2010 e 2011 em Valente (BA), e avaliar a toxicidade dos extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* para plantas de milho. Foram realizados testes colorimétricos e de precipitação para detecção dos componentes químicos do resíduo e, para efeito de fitotoxicidade, os extratos etanólico, butanólico e acetato de etila foram testados em comparação com o inseticida natural Nim, o sintético metomil e água destilada, sendo atribuídas notas de acordo com a intensidade dos sintomas. Foram encontrados indícios da presença de taninos, triterpenos e saponinas em todas as amostras do resíduo, sendo que, em amostras não levadas à decoção foram encontrados, ainda, alcaloides e cumarinas, o que não compromete a atividade inseticida. Em ambos os experimentos de fitotoxicidade, o extrato acetato de etila foi o que proporcionou os menores efeitos, enquanto o extrato etanólico, na concentração de 100 mg.ml⁻¹, causou os maiores danos, dentre os tratamentos.

Palavras chave: *Agave sisalana*, Metabólitos secundários, Fitotoxicidade.

Chemical composition and foliar toxicity of the extracts from the waste liquid of sisal

Abstract: This research aimed to perform phytochemical screening with sisal juice obtained by two distinct processes, collected in the years 2010 and 2011 from Valente (BA), and to evaluate the toxicity of the extracts from the waste liquid of *Agave sisalana* to maize plants. Colorimetric tests and precipitation were carried out for detection of chemical components of the residue and, for the evaluation of phytotoxicity, the ethanolic extracts, butanolic and ethyl acetate were tested in comparison with the Nim, the synthetic insecticide methomyl and distilled water, and assigned values according to symptom severity. In all the samples of the residue were found indication of the presence of tannins, triterpenes and saponins, and, on samples taken not to decoction, were found also alkaloids and coumarins, which does not compromise the insecticidal activity. In both experiments phytotoxicity, the ethyl acetate extract was what provided the smallest effects, while the ethanolic extract, in the concentration of 100 mg.ml⁻¹, caused the greatest damage, among treatments.

Keywords: *Agave sisalana*, Secondary metabolites, Phytotoxicity.

Introdução

Circunscrita recentemente em Asparagaceae (THE PLANT LIST, 2010), *Agave sisalana* é uma

monocotiledônea perene em que as folhas e o broto terminal estão inseridos no pseudocaule, que pode, quando adulto, atingir uma altura de até 1,20 m e um diâmetro de 20 cm. As folhas são lanceoladas, sésseis, rígidas, de cor verde-

escuro e comprimento entre 120 e 160 cm, com 10 a 15 cm de largura na sua parte média (SILVA et al., 2008).

As fibras do sisal representam o percentual de apenas 3 a 5% da folha; por sua vez, os 95 a 97% restantes constituem os resíduos do beneficiamento, que são utilizados como adubo orgânico, ração animal e pela indústria farmacêutica (MARTIN et al., 2009). Esses resíduos são compostos por água, seiva vegetal, compostos do metabolismo primário e secundário, partículas de tecido parenquimatoso, pedaços de folhas e fibras de diferentes tamanhos (SILVA et al., 2006).

Os componentes do metabolismo secundário de uma planta dizem respeito a todas aquelas substâncias que, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema (SANTOS, 2007). Desse modo, conhecer a composição química dos extratos de plantas permite avaliar seus efeitos e potencializar seu uso como substância inseticida.

Dentre os metabólitos já relatados no extrato do sisal, destacam-se os taninos, alcaloides e cumarinas Barreto et al. (2003), além das saponinas, já confirmadas como constantes do resíduo líquido de *A. sisalana* (PIZARRO et al., 1999; ZOU et al., 2006). Ade-Ajayi et al. (2011) encontraram ainda glicosídeos, terpenoides e flavonoides no extrato aquoso de *A. sisalana*, salientando a ausência de esteroides. No entanto, Branco et al. (2010) relatam que, somadas as saponinas, estão os esteroides e açúcares, como o d-manitol.

Muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de viabilizar o emprego de plantas com atividade inseticida no controle de pragas (VIANA & PRATES, 2003; BOGORNÍ & VENDRAMIM, 2005; LIMA et al., 2009), destacando *A. sisalana* como espécie que apresenta tal atividade (PIZARRO et al., 1999; GONÇALVES JUNIOR, 2002; BARRETO et al., 2003, 2010; SOUZA, 2009).

Entre as limitações ao uso de extratos vegetais no campo, pode ser apontada a falta de dados, principalmente no Brasil, relacionados à fitotoxicidade, à persistência e aos efeitos sobre organismos benéficos (COSTA et al., 2004).

Tendo em vista que os estudos com *A. sisalana* ainda são incipientes e que outras pesquisas apresentam diferença de constituição química para essa espécie, o que pode ser explicado pela localidade em que foi coletada, objetivou-se realizar levantamento prévio da composição química de amostras do resíduo líquido de sisal, levadas a dois diferentes processos de obtenção, coletadas no município de Valente (BA) e, adicionalmente, testar a toxicidade foliar para o milho dos extratos etanólico, butanólico e acetato de etila elaborados desse resíduo, em duas épocas de pulverização.

Material e métodos

Testes para detecção de compostos do metabolismo secundário.

Do resíduo industrial do sisal resultaram 6 litros de suco, obtido através da filtragem da parte aquosa com auxílio de peneira, sendo posteriormente dividido em duas porções, em que uma foi submetida à decocção para minimizar interferências de microrganismos (Decocto do Suco de Sisal -DSS) e a outra não foi levada ao aquecimento com a finalidade de avaliar o efeito do calor na composição química do suco (denominada Suco de Sisal – SS). Foram realizadas coletas nos anos de 2010 e 2011, resultando, portanto, nas frações DSS/2010, SS/2010, DSS/2011 e SS/2011. Foi obtido o resíduo bruto concentrado de todas as frações.

Para a triagem fitoquímica, foram utilizadas metodologias propostas por Matos (1997), com modificações, sendo realizados testes colorimétricos e de precipitação para qualificar presença de fenóis, taninos, cumarinas, esteróides, triterpenoides, saponinas, alcaloides, flavonoides, antocianinas e compostos antraquinônicos. A mudança de coloração evidente e/ou a observação de precipitado foram considerados para a conclusão de resultado positivo.

Teste de fitotoxicidade de extratos obtidos do resíduo de sisal

O resíduo industrial da *A. sisalana* foi coletado diretamente nos locais de produção de sisal, entre os municípios de Valente e São Domingos (BA), nas coordenadas de 11°24'53"S e 39°30'46"O, sendo adicionada água destilada

na proporção de 1:1 p/v e submetido à decocção por uma hora. Foram filtrados 80 litros desse resíduo, a fim de separar a mucilagem do líquido, distribuído em bandejas plásticas e levado para a estufa a 60 °C até a obtenção do resíduo bruto concentrado, sendo este triturado.

O resíduo bruto foi macerado com etanol a 92% e permaneceu em repouso por 24 horas. Após 12 horas em geladeira, o resíduo foi posteriormente filtrado em funil de Buchner sob vácuo. Foi separado 1/3 do filtrado e concentrado totalmente no rotaevaporador, sob pressão de 600 mmHg e temperatura de 60°C-70 °C, sendo obtido o extrato etanólico. Os outros 2/3 da solução foram dissolvidos em água destilada e transferidos para funil de separação para ser extraído com 50 ml do solvente acetato de etila, por três vezes. Posteriormente, a solução aquosa foi extraída com o mesmo volume do solvente butanol, também por três vezes. Tais extratos foram evaporados e armazenados.

Os extratos foram diluídos em água destilada, obtendo-se as concentrações de 12,5; 25; 50; 75 e 100 mg.ml⁻¹ de extrato etanólico; 15 e 30 mg.ml⁻¹ de extrato butanólico e 20 mg.ml⁻¹ de extrato acetato de etila. Em comparação com os extratos vegetais, foram utilizados, para controle positivo, o inseticida vegetal à base de óleo de Nim e o inseticida metomil nas concentrações determinadas pelos fabricantes. Para controle negativo foi usada água destilada. Foram instalados dois experimentos com milho utilizando

as sementes da cultivar BR 106, em casa de vegetação da Unidade Experimental Horto Florestal da UEFS, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados com 11 tratamentos (extratos de sisal, controles positivos e negativo) e quatro repetições. Os tratamentos foram pulverizados nas folhas de milho, aos 45 dias de idade, período de maior incidência da praga *Spodoptera frugiperda* (FERRAZ,1982), com o auxílio de Pulverizadores Export Guarany, com capacidade para 370 ml, ao entardecer, sendo separados por lona plástica, para evitar que, no momento da aplicação, houvesse deriva entre eles.

A avaliação foi realizada 24 horas após as aplicações, sendo utilizada a escala proposta pelo Comitê de Métodos do Conselho Europeu de Pesquisa sobre Plantas Daninhas (European Weed Research Council, 1964): 1=Nulo, 2=Muito leve, 3=Leve, 4=Baixa, 5=Média, 6=Quase forte, 7=Forte, 8=Muito Forte e 9=Total (Destruição completa). Na atribuição das notas de toxicidade, foram considerados o grau de clorose e enrugamento das folhas (Figura 1).

No primeiro experimento, a parcela experimental contou com nove plantas e, no momento da aplicação, 30 ml de cada tratamento foram distribuídos uniformemente em todas as quatro repetições. As avaliações foram realizadas por comparação geral entre os extratos vegetais e os controles, sendo as notas atribuídas por tratamento.

Figura 1 - Efeitos de fitotoxicidade observados nos tratamentos. A– Clorose superficial de grande parte das nervuras secundárias, com nível de fitotoxicidade considerado médio; B– Clorose mais acentuada, sendo observado enrugamento foliar, cujo nível de fitotoxicidade foi considerado quase forte e C– Clorose de poucas nervuras na base foliar, sendo o nível de fitotoxicidade considerado baixo.



No segundo experimento, a toxicidade foliar foi avaliada por planta, sendo que cada parcela experimental contou com três plantas e as pulverizações foram realizadas de forma que cada planta recebesse, em média, 2,5 ml do tratamento correspondente. Após 15 dias, foi realizada uma nova aplicação e avaliação dos tratamentos.

Os dados obtidos nesse experimento foram submetidos à análise de variância segundo o modelo estatístico do delineamento em blocos casualizados no esquema de parcelas

subdivididas no tempo. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t de contrastes ortogonais (Tabela 1) a 5% de probabilidade. Para as médias dos tratamentos compostos por extrato vegetal à base de etanol, foram ajustados modelos de regressão polinomial. As médias das épocas de avaliação foram comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (SAS INSTITUTE, 2006).

Tabela 1 - Descrição dos contrastes ortogonais para os tratamentos com extratos vegetais de *Agave sisalana* e os controles, utilizados para testar o efeito fitotóxico da espécie.

Contrastes ortogonais	Comparação
$\hat{Y}_1 = 3\hat{m}_1 + 3\hat{m}_2 + 3\hat{m}_3 + 3\hat{m}_4 + 3\hat{m}_5 + 3\hat{m}_6 + 3\hat{m}_7 + 3\hat{m}_8 - 8\hat{m}_9 - 8\hat{m}_{10} - 8\hat{m}_{11}$	Efeito dos extratos vegetais versus os tratamentos controles
$\hat{Y}_2 = \hat{m}_9 + \hat{m}_{10} - 2\hat{m}_{11}$	Efeito dos controles positivos (NIM e Metomil) versus o controle negativo (água)
$\hat{Y}_3 = \hat{m}_9 - \hat{m}_{10}$	Efeito do controle positivo natural versus o controle positivo sintético
$\hat{Y}_4 = \hat{m}_1 + \hat{m}_2 + \hat{m}_3 + \hat{m}_4 + \hat{m}_5 + \hat{m}_6 + \hat{m}_7 - 7\hat{m}_8$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol e butanol versus o extrato vegetal à base de acetato de etila
$\hat{Y}_5 = 2\hat{m}_1 + 2\hat{m}_2 + 2\hat{m}_3 + 2\hat{m}_4 + 2\hat{m}_5 - 5\hat{m}_6 - 5\hat{m}_7$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol versus os extratos vegetais à base de butanol
$\hat{Y}_6 = \hat{m}_6 - \hat{m}_7$	Efeito do extrato vegetal à base de butanol 15 mg.ml-1 versus o extrato vegetal à base de butanol 30 mg.ml-1

Resultados e discussão

Triagem fitoquímica de amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana*

Todas as amostras do resíduo líquido de *A. sisalana* analisadas foram indicativas da presença de triterpenoides, taninos e saponinas, como mostrado na Tabela 2, salientando-se que

as partes DSS/2011 e SS/2011 apresentaram resultado fracamente positivo para a presença de taninos em relação às partes DSS/2010 e SS/2010. Em contrapartida, a mesma reação foi visualizada nas amostras para indícios de triterpenoides e saponinas. As Figuras 2, 3, 4, 5 e 6 ilustram os resultados dos testes colorimétricos e/ou precipitação.

A presença de flavonoides nas amostras obtidas da coleta realizada em 2010 não foi afetada pelo aquecimento. O mesmo já não pode ser dito em relação às cumarinas, cujo aquecimento do resíduo parece influenciar na sua presença, assim como para os alcaloides, que estiveram ausentes nas duas amostras levadas à decocção (Tabela 2). Dessa forma, quando coletado o resíduo líquido de *Agave sisalana*, a não submissão à extração por decocção, pode favorecer a presença de mais princípios ativos.

Pesquisadores que estudam a espécie, obtendo o resíduo sem levá-lo a aquecimento (BARRETO et al., 2003; BRANCO et al., 2010; PIZARRO et al., 1999), por decocção (SANTOS, 2009), ou até mesmo aqueles que não usaram tais metodologias ou não deixam claro seu uso (ADE-AJAYI et al., 2011; DEBNATH et al., 2010; ZOU et al., 2006), descrevem a presença de saponinas no resíduo líquido, assim como observado no presente trabalho. Em algumas amostras foram detectadas ainda a presença de taninos, alcaloides e cumarinas, conforme composição descrita por Barreto et al. (2003) e flavonoides, corroborando Ade-Ajayi et al. (2011).

Alguns dos metabólitos encontrados nesta pesquisa já haviam sido relatados com ação inseticida. Vinayaka et al. (2010) detectaram a presença de taninos e esteroides no extrato metanólico do macrolíquén *Parmotrema pseudotinctorum* e constataram atividade inseticida contra larvas de segundo ínstar de *Aedes aegypti*, inferindo que a presença de tais constituintes pode ser responsável pela atividade inseticida observada.

As saponinas apresentam importantes funções ecológicas e agrônômicas, contribuindo para defesa de culturas de plantas contra pragas, patógenos e predadores, podendo afetar a

palatabilidade das plantas para os animais, inclusive humanos (OSBOURN et al., 2011). Além da propriedade inseticida, tais moléculas apresentam variado número de propriedades biológicas devido ao seu comportamento anfífilico e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas, fosfolípídeos de membranas, destacando-se a ação sobre membranas celulares, ao alterar a permeabilidade ou causar sua destruição. Relacionada a essa ação sobre membranas, estão as atividades hemolítica, ictiotóxica e moluscicida frequentemente observadas (SCHENKEL et al., 2007).

Deore & Khadabadi (2009) publicaram pesquisa com saponinas extraídas da planta *Chlorophytum borivillianum* que apresentou propriedade larvicida contra mosquitos das espécies *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*. D'addabbo et al. (2011), ainda, sugerem o uso de saponinas de *Medicago sativa* como bom candidato para formulações de nematocidas naturais, tendo sido efetivas para o controle do *Xiphinema index*, *Meloidogyne incognita* e *Globodera rostochiensis*, reduzindo a densidade populacional do nematoide-alvo nas raízes e no solo.

Os terpenos possuem importância ecológica bem estabelecida como defensivos de plantas, pois a grande maioria de trabalhos na literatura que se referem a terpenoides superiores fazem referência à observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Tabela 2 - Indicativo da presença dos metabólitos encontrados nas amostras de sisal.

	Taninos	triterpenoides	saponinas	alcaloides	cumarinas	flavonoides
DSS/2010	+	+	+	-	-	+
DSS/2011	+	+	+	-	-	-
SS/2010	+	+	+	+	+	+
SS/2011	+	+	+	+	-	-

Presença (+)/ Ausência (-). DSS - resíduos submetidos à decocção, SS - resíduos não submetidos à decocção.

Figura 2 - Resultados dos testes realizados para a fração DSS/2010. A - Taninos, B - flavonoides, C - triterpenoides e D - saponinas.

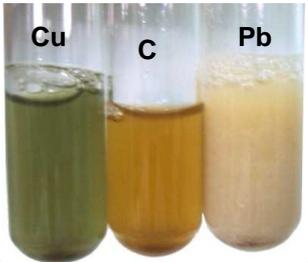
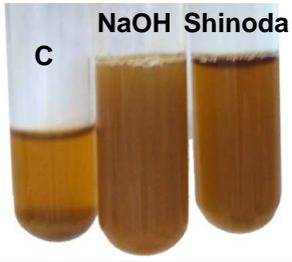
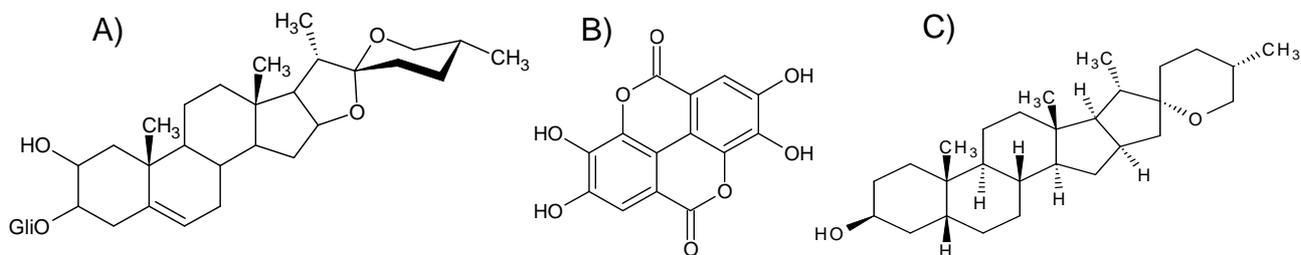
		
<p>C: controle Pb: Reação com acetato de chumbo, com formação de precipitado. Cu: Reação com acetato de cobre. Mudança de coloração.</p>	<p>C: controle NaOH: Reação com hidróxidos alcalinos. Observada pequena turvação. Shinoda: Reação de Shinoda. Leve mudança na coloração.</p>	<p>Observada mudança de cor entre parda e vermelha, sendo esse resultado indicativo da presença de triterpenoides</p>
		
<p>Formação de espuma abundante</p>		

Figura 3 - Exemplos de estruturas moleculares de saponina (A), tanino (B) e triterpenoide (C) (GUERRA et al., 2008; BERLINCK, 2010).



Nesse sentido, muitas pesquisas têm focado na triagem de limonoides, nível máximo na sequência de produção de terpenoides, o que pode ser representado pela bem documentada bioatividade da azadiractina (SANTOS et al., 2008), composto utilizado na formulação

comercial do Nim-I-Go®. São conhecidos cerca de 100 triterpenoides identificados das sementes, madeira, cascas, folhas e frutos de *Azadirachta indica*, estando intimamente associados à ação supressora de apetite ou inibidora de crescimento em insetos (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Figura 4 - Resultados dos testes realizados para a fração SS/2010. A - Taninos, B e C - flavonoides, D - cumarinas, E - alcaloides, F - saponinas e G - triterpenoides.

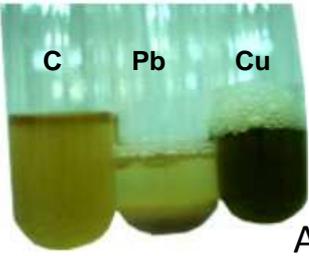
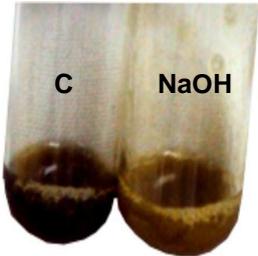
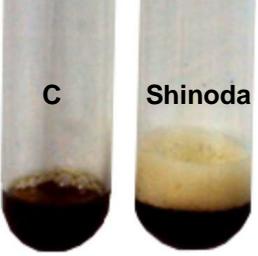
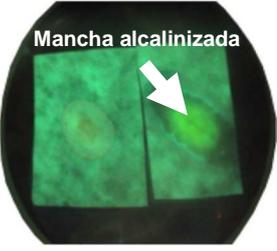
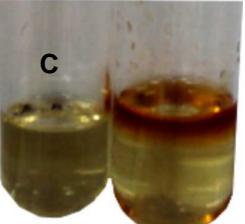
 <p style="text-align: center;">C Pb Cu</p> <p style="text-align: right;">A</p>	 <p style="text-align: center;">C NaOH</p> <p style="text-align: right;">B</p>	 <p style="text-align: center;">C Shinoda</p> <p style="text-align: right;">C</p>
<p>C: controle Pb: Reação com acetato de chumbo Cu: Reação com acetato de cobre. Mesmos resultados da fração anterior.</p>	<p>C: controle NaOH: Reação com hidróxidos alcalinos. Observada turvação, viscosidade e mudança de coloração.</p>	<p>C: controle Shinoda: Reação de Shinoda. Leve mudança de coloração.</p>
 <p style="text-align: center;">Mancha alcalinizada</p> <p style="text-align: right;">D</p>	 <p style="text-align: right;">E</p>	 <p style="text-align: right;">F</p>
<p>Foi visualizada fluorescência na mancha alcalinizada.</p>	<p>Pouca precipitação.</p>	<p>Mesmo resultado da fração anterior.</p>
 <p style="text-align: center;">C G</p>		
<p>C: controle Mesmo resultado da fração anterior.</p>		

Figura 5 - Resultados dos testes realizados para a fração DSS/2011. A - Taninos, B - triterpenoides e C - saponinas.

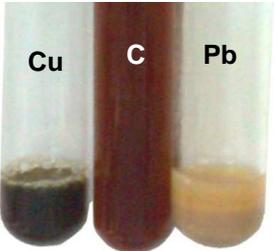
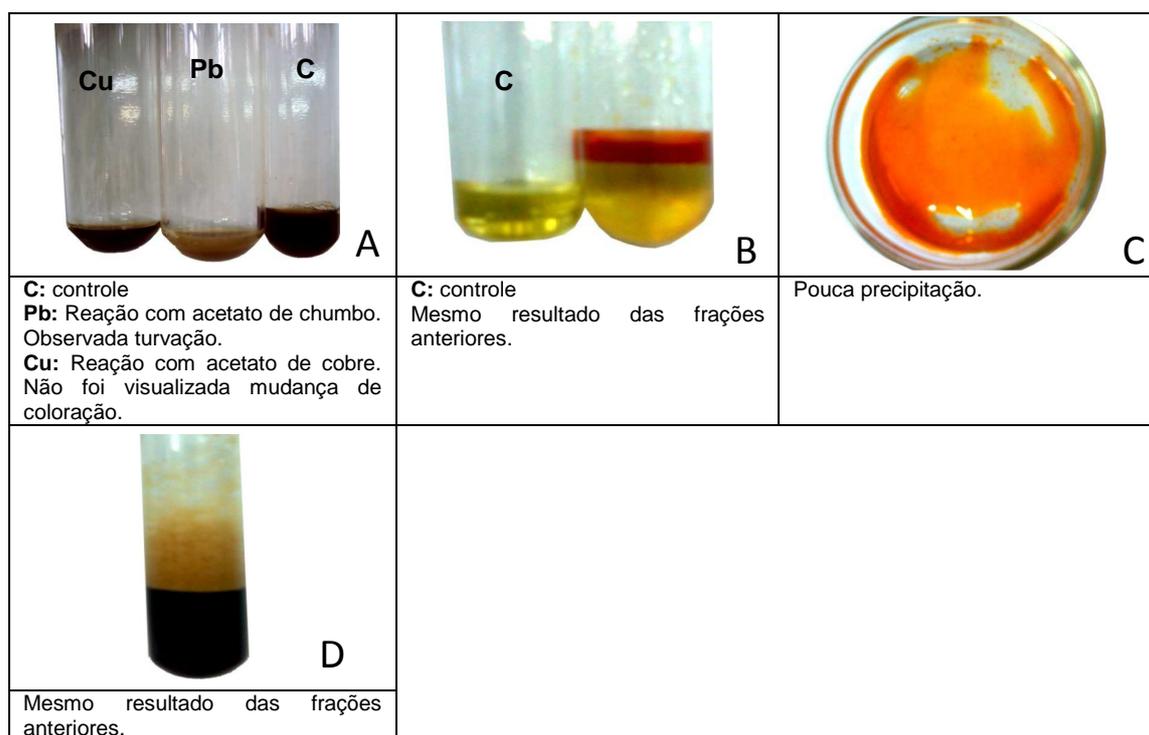
 <p style="text-align: center;">Cu C Pb</p> <p style="text-align: right;">A</p>	 <p style="text-align: right;">B</p>	 <p style="text-align: right;">C</p>
<p>C: controle Cu: Reação com acetato de cobre. Pb: Reação com acetato de chumbo com formação de precipitado.</p>	<p>Mesmo resultado das frações anteriores.</p>	<p>Mesmo resultado das frações anteriores.</p>

Figura 6 - Resultados dos testes realizados para a fração SS/2011. A - Taninos, B - triterpenoides, C - alcaloides e D - saponinas.



Efeito de toxicidade foliar dos extratos de *Agave sisalana*

No primeiro experimento, os tratamentos que causaram menor dano às folhas foram o Nim e o extrato acetato de etila, que proporcionaram danos muito leves. O que obteve a maior nota de toxicidade foliar foi o etanólico a 100 mg.ml^{-1} , com danos muito fortes (Tabela 3).

Os extratos vegetais que se equiparam aos inseticidas comercialmente utilizados foram o acetato de etila com o inseticida natural (Nim), apresentando danos menores que o inseticida químico (Metomil), o qual obteve os mesmos resultados do extrato butanólico, em ambas as concentrações. O extrato etanólico apresentou as maiores notas de toxicidade foliar, conforme apresentado na Tabela 3.

No segundo experimento, houve efeito significativo dos tratamentos, bem como das épocas de aplicação (Tabela 4), no entanto, não houve interação entre esses fatores. Souza (2009), realizando aplicações aos 30, 43 e 50 dias da sementeira, também encontrou efeito dos tratamentos e épocas de aplicação para o

experimento de fitotoxicidade realizado com o extrato hidroetanólico de *A. sisalana*, e não constatou interação significativa entre os fatores aplicações e tratamentos.

Os maiores valores de fitotoxicidade para o milho foram observados na segunda aplicação dos tratamentos (60 dias após a sementeira), sendo que, na primeira aplicação, foi encontrada toxicidade foliar de 1,6509 e na segunda de 2,1670, aumento considerado significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade. Como a cada nova aplicação há distribuição de uma maior quantidade de metabólitos na superfície foliar, é esperado encontrar um efeito tóxico mais acentuado.

Na Tabela 5 são mostradas as médias para cada tratamento, a fim de enfatizar as diferenças encontradas pelo teste t, podendo ser observado que, dentre os extratos vegetais, o acetato de etila apresentou dano inferior ao dos inseticidas comerciais, semelhante ao extrato etanólico a 25 mg.ml^{-1} e ao controle com água destilada. Os extratos butanólico e etanólico, nas concentrações de $12,5$, 50 e 75 mg.ml^{-1} , se equiparam aos inseticidas comercialmente

utilizados. Dentre todos os tratamentos avaliados, a maior toxicidade foliar foi relatada para o extrato etanólico na concentração de 100 mg.ml⁻¹ (3,1025).

Souza (2009) relatou que, para o extrato

hidroetanólico do resíduo líquido de *Agave sisalana*, nas concentrações de 25; 50 e 100mg.ml⁻¹ foram atribuídas as respectivas notas de fitotoxicidade: 1,1667; 2,0867 e 3,2000. Nessas concentrações, os danos encontrados pelo autor foram semelhantes aos aqui relatados.

Tabela 3 - Avaliação do efeito fitotóxico dos extratos de *Agave sisalana* e dos controles com Nim, Metomil e água destilada, sobre o milho, Feira de Santana (BA), no ano agrícola de 2010.

TRATAMENTO	AVALIAÇÃO DO DANO								
	N	ML	L	B	M	QF	F	MF	T
Etanólico 12,5 mg.ml-1				X					
Etanólico 25 mg.ml-1							X		
Etanólico 50 mg.ml-1					X				
Etanólico 75 mg.ml-1						X			
Etanólico 100 mg.ml-1								X	
Butanólico 15 mg.ml-1			X						
Butanólico 30 mg.ml-1			X						
Acetato 20 mg.ml-1		X							
Nim		X							
Metomil			X						
Água	X								

N= nulo; ML= muito leve; L= leve; B= baixo; M= médio; QF= quase forte; F= forte; MF= muito forte; T= total (destruição completa).

Tabela 4 - Resumo da análise de variância para a toxicidade foliar dos tratamentos com extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles, em duas épocas de aplicação.

FV	GL	QM
Tratamentos	10	2,0347**
Erro a	30	0,2471
Épocas	1	5,8607**
Tratamentos x Épocas	10	0,5767 ^{ns}
Erro b	33	0,4477
CV (%)		35,05
Média Geral		1,9090

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

A escolha da aplicação de extratos do resíduo líquido de *A. sisalana* à base de etanol, butanol e acetato de etila, nas concentrações aqui testadas, apresentam padrão de toxicidade semelhante a dos inseticidas já comercializados (Tabela 6).

Os extratos etanólico e butanólico apresentaram toxicidade foliar semelhante e foram significativamente mais tóxicos para a

planta do que o extrato acetato de etila (Tabela 6). Ainda referente a esse extrato, os dados visualizados na tabela 5 correspondem aos encontrados no primeiro experimento (Tabela 3), nos quais foi obtido o menor efeito de toxicidade foliar quando relacionado aos outros extratos vegetais do resíduo líquido de sisal, o que torna o extrato à base de acetato de etila promissor para uso em campo.

Tabela 5 - Valores médios das notas de toxicidade foliar para os extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana*, em comparação com o inseticida natural Nim, o inseticida sintético metomil e água destilada, após duas aplicações.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (DANOS)
Extrato Etanólico a 1,25%	2,0413 b
Extrato Etanólico a 2,5%	1,4575 a
Extrato Etanólico a 5%	2,0425 b
Extrato Etanólico a 7,5%	1,8338 b
Extrato Etanólico a 10%	3,1025 c
Extrato Butanólico a 1,5%	1,7488 b
Extrato Butanólico a 3%	1,9600 b
Extrato Acetato de etila a 2%	1,5838 a
Inseticida natural	2,0200 b
Inseticida sintético	2,1250 b
Água destilada	1,0838 a

Notas de fitotoxicidade: 1=Nulo, 2=Muito leve, 3=Leve, 4=Baixa, 5=Média, 6=Quase forte, 7=Forte, 8=Muito Forte e 9=Total (Destruição completa) (European Weed Research Council, 1964).

Tabela 6 - Estimativas dos contrastes ortogonais para os tratamentos com os extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os tratamentos controle com Nim, Metomil e água destilada, para efeito fitotóxico, avaliado em duas épocas de aplicação.

Contrastes	Estimativas dos contrastes
Extrato vegetal versus Controles	0,2283 ^{ns}
Controle Positivo versus Controle Negativo	0,9888 ^{**}
Nim versus metomil	-0,1050 ^{ns}
Extratos Etanólico e Butanólico versus Acetato de etila	0,4429 [*]
Etanólico versus Butanólico	0,2411 ^{ns}
Butanólico a 1,5% versus Butanólico a 3%	-0,2113

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de t.

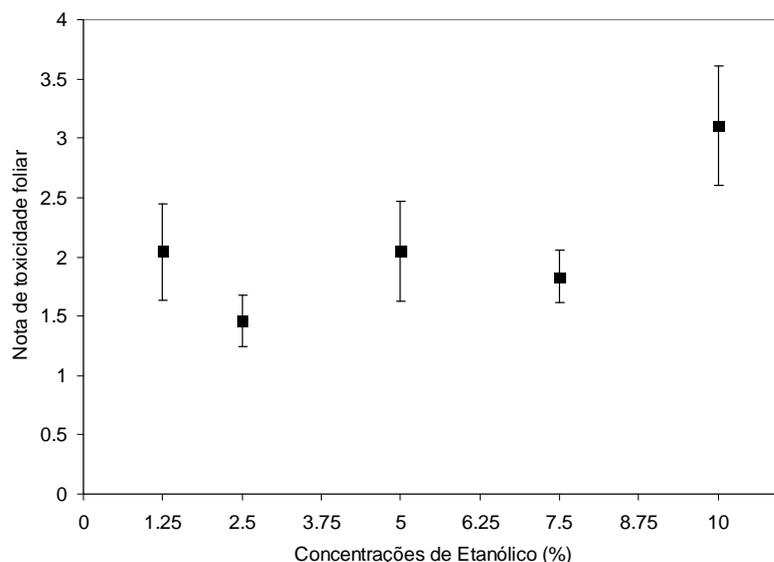
Como não foi possível ajustar um modelo de equação com alto R^2 e com significado biológico para os tratamentos com o extrato etanólico, pode-se observar, de acordo com a Figura 7, que a concentração de 100 mg.ml^{-1} foi superior, em termos de toxicidade foliar, às demais; o mesmo foi observado no primeiro experimento (ver Tabela 3).

Segundo Aguiar-Menezes (2005), os inseticidas saponáceos podem ser tóxicos a alguns vegetais, o que levou Souza (2009) a deduzir que o nível de fitotoxicidade encontrado para as soluções de extrato hidroetanólico do resíduo líquido de sisal seria devido a presença de saponinas. Portanto, os dados de toxicidade

foliar relatados na presente pesquisa podem ser atribuídos à presença desses metabólitos detectados na triagem fitoquímica.

Barreto et al. (2010) avaliaram os efeitos de extratos frescos e curtidos de sisal quanto à toxicidade para o algodoeiro e verificaram efeito significativo dos tratamentos em todas as aplicações, sendo de leves a muito leves nas plantas dos 10 e 35 dias após a emergência e acentuada aos 65 dias. No presente trabalho, os tratamentos foram pulverizados aos 45 e 60 dias após a semeadura, sendo encontrados danos de toxicidade foliar mais acentuados na segunda aplicação.

Figura 7 - Notas de toxicidade foliar em função das concentrações do extrato etanólico do resíduo líquido de *Agave sisalana*.



Conclusões

As amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana*, levadas a dois diferentes processos de obtenção, apresentam indícios de saponinas, triterpenoides e taninos, sendo que a decoção comprometeu a presença de cumarinas e alcaloides. O comprometimento dessas classes químicas, com base na literatura, não interfere na ação inseticida, de forma que o resíduo poderá ser aproveitado com o intuito de obter uma formulação para ser utilizada no combate a insetos-praga em plantações agrícolas.

Os extratos à base de etanol apresentaram fitotoxicidade para a cultura de milho superior a do tratamento com extratos à base de butanol e acetato de etila. Devido ao acetato apresentar, nos dois experimentos realizados, os menores danos de toxicidade foliar, interpõe-se que é o mais propenso para uso em campo.

Referências

ADE-AJAYI, A. F.; HAMMUEL, C.; EZEAYANASO, C.; OGABIELA, E. E.; UDIBA, U.

U.; ANYIM, B. & OLABANJI, O. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of *Agave sisalana* Perrine juice (waste). **Journal of**

Environmental Chemistry and Ecotoxicology. v. 3, p. 180-183. 2011.

AGUIAR-MENEZES, E.L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédia**: Embrapa Agrobiologia. 58 p. 2005.

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BELTRÃO, N.E.M.; CARDOSO, G.D. & SILVA, C.I.R.E.E.. **Efeito de extrato de agave sobre ácaros rajados *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch)**. 2003. Parte da dissertação do 1º autor. Disponível em <www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/.../061.pdf> Acesso em 16 de junho de 2010.

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BONIFÁCIO, B.F. Eficiência de extratos de *Agave sisalana* (Perrine) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch) e ocorrência de fitotoxidez em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium*

Hutch). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, p. 207-215. 2010.

BERLINCK, R. **Ruminantes, plantas e efeito estufa**. 2010. Disponível em <<http://scienceblogs.com.br/quimicaviva/>>. Acesso em 28 de fevereiro de 2012.

BRANCO, ALEXSANDRO; SANTOS, JENER DAVID G.; PIMENTEL, MONALISA M.A.M.; OSUNA, JUAN T.A; LIMA, LUCIANO S.; DAVID, JORGE M. d-Mannitol from *Agave sisalana* biomass waste. **Industrial Crops and Products** v. 32, p. 507–510. 2010.

BOGORNÍ, P.C. & VENDRAMIM, J.D. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 311-317. 2005.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P. & FIUZA, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, p. 173-185. 2004.

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.

DEBNATH, M.; PANDEY, M., SHARMA, R.; HAKUR, G.S. & LAL, P. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. **Journal of Medicinal Plants Research**, v 4, p. 177-187. 2010.

DEORE, S. L. & KHADABADI, S. S. Larvicidal activity of the saponin fractions of *Chlorophytum borivillianum* Santapau and Fernandes. **Journal of Entomology and Nematology**. v. 1, p. 064-066. 2009.

FERRAZ, MARIA CLARICE VASCONCELOS DIAS. **Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em cultura de milho**. 1982. Dissertação de Mestrado em Entomologia,

Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 81p.

GUERRA, J.O.; MENESES, A.; SIMONET, A.M.; MACÍAS, F.A.; NOGUEIRAS, C.; GÓMEZ, A. & ESCARIO, J.A. Saponinas esteroidales de la planta *Agave brittoniana* (Agavaceae) con actividad contra el parásito *Trichomona vaginalis*. **Revista de Biología Tropical**, v.56. 2008.

GONÇALVES JUNIOR. **Avaliação de extratos de Agave no controle de galhas radiculares do tomateiro**. Dissertação de mestrado em agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia (PB). p. 31. 2002.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. & GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica**, v. 39, p. 377 – 382. 2009.

MARTIN, A.R.; MARTINS, M.A.; MATTOSO, L.H.C. & SILVA, O.R.R.F. Caracterização Química e Estrutural de Fibra de Sisal da Variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 19, p. 40-46. 2009.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC. 141p. 1997.

OSBOURN, A.; GOSS, R. J. M. & FIELD, R. A. The saponins – polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Product Reports**, v. 28, p. 1261–1268. 2011.

PIZARRO, A.P. B.; FILHO, A.M.O.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.V.; SANTOS, C.E. dos & LIMA, P.R.. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 32, p. 23-29. 1999.

SANTOS, J.D.G; BRANCO, A., SILVA, A.F.; PINHEIRO, C.S.R.; NETO, A.G.; UETANABARO, A.P.T.; QUEIROZ, S.R.O.D. & OSUNA, J.T.A. Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8. 2009.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC. p. 1104. 2007.

SANTOS, W.L.; FREIRE, M.G.M.; BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D. & MACEDO, M.L.R. Effect of the Aqueous Extracts of the Seeds of *Talisia esculenta* and *Sapindus saponaria* on Fall Armyworm. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.51, p 373-383. 2008.

SAS INSTITUTE. 2006. SAS Technical Report. **SAS/ STAT software: Changes and Enhancement**, Release 9.1.1.3, Cary, NC: SAS Institute.

SCHENKEL, E.P; GOSMANN, G. & ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC. 1104. 2007.

SILVA, O.R.R.F; COUTINHO, W.M.; CARTAXO, W.V.; SOFIATTI, V.; SILVA FILHO, J.L.; CARVALHO, O.S. & COSTA, L.B. **Cultivo do sisal no nordeste brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 24p. (Circular Técnica, 123). 2008.

SILVA, O.R.R.F.; SUINAGA, F.A. & COUTINHO, W.M. Cadeia produtiva. In: ANDRADE, W (Org.). **O sisal do Brasil**. Salvador: SINDIFIBRAS-Sindicato das Indústrias de Fibras Vegetais da Bahia, 156 p. 2006.

SOUZA, M.F. **Atividade inseticida de extratos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine no controle da praga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. 2009. Tese de mestrado em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA. 64p.

THE PLANT LIST. 2010. **Versão 1.1. Publicada na Internet; Disponível em** <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em 17 de janeiro de 2012.

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

VIANA, P.F. & PRATES, H.T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p.69-74. 2003.

VINAYAKA, K.S.; KUMAR, S.V. P.; MALLIKARJUN, N. & KEKUDA, T.R.P. Studies on Insecticidal activity and Nutritive composition of a macrolichen *Parmotrema pseudotinctorum* (des. Abb.) Hale (Parmeliaceae). **Drug Invention Today**, v. 2, p. 102-105. 2010.

ZOU, PENG; FU, JING; YU, HE-SHUI; ZHANG, JIE; KANG, LI-PING; MA, BAI-PING; YAN, XIAN-ZHONG. The NMR studies on two new furostanol saponins from *Agave sisalana* leaves. **Magnetic Resonance in Chemistry**. v. 44, p. 1090–1095. 2006.

Recebido em: 26/02/2013
Aceito em: 06/04/2014