

**CONSOLIDAÇÃO DA REDE DE PESQUISA
SOBRE OS ECOSISTEMAS DO PANTANAL –
CPP**

Termo de Parceria MCT-CPP

Nº. 13.0007.00/2004

**RELATÓRIO DE ATIVIDADES
(SUSTENTABILIDADE DE ALTERNATIVAS
ECONÔMICAS NO PANTANAL)
2004-2005**

CUIABÁ – MT

Outubro 2005

ÍNDICE

1.0	Introdução	3
2.0	Atividades Realizadas	4
2.1	Workshop “Agregando valor aos produtos naturais do Pantanal”	4
2.2	Workshop “ Estruturação da Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal”	6
3.0	Conclusão	7
	ANEXO 1: Programação e lista de participantes do Workshop “Agregando Valor aos Produtos Naturais do Pantanal”	8
	ANEXO 2: Carta-propostas pelas Intituições	12
	ANEXO 3: Ofícios encaminhados aos presidentes das FAPs e ao MCT.....	51
	ANEXO 4: Proposta de prestação de serviços (Instituto Publix) programação do Workshop “Estruturação da Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal”	55
	ANEXO 5: Resultado do processo de facilitação do Workshop “Estruturação da Rede Pantaneira de Bioprospecção”	60
	ANEXO 6: Projetos que compõem a Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal	72

1. INTRODUÇÃO

Em 2003 o CPP elaborou o projeto “Consolidação da Rede de Pesquisa sobre os Ecossistemas do Pantanal – CPP” e o submeteu ao MCT. Este projeto propunha a criação de 3 redes temáticas de pesquisa: uma sobre a sustentabilidade da pecuária no Pantanal, outra sobre a sustentabilidade da pesca no Pantanal e uma terceira sobre alternativas econômicas no Pantanal. O valor total da proposta aprovada foi de R\$2.864.320,00 e o seu prazo de execução, de 4 anos.

Em abril de 2004 o CPP promoveu um *workshop* com diversas instituições de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, tendo como resultado a criação das redes de “Sustentabilidade da Pecuária no Pantanal” e “Sustentabilidade da Pesca no Pantanal”, formadas por vários pesquisadores oriundos das instituições presentes no *workshop*.

Em 1º de julho de 2004 o CPP e o MCT assinaram o Termo de Parceria TP 13.007.00/2004, prevendo um primeiro desembolso por parte do MCT, no valor de R\$ 640.000,00 (seiscentos e quarenta mil reais), compreendendo o período agosto de 2004 a agosto de 2005, para atender à demanda das duas redes acima citadas. As atividades executadas pelo CPP e pelas duas redes mencionadas durante este período foram descritas em Relatório encaminhado pelo CPP ao MCT.

Em novembro de 2004 o CPP e o MCT firmaram um Termo Aditivo ao TP nº. 13.007.00/2004, no montante de R\$ 145.000,00 (cento e quarenta e cinco mil reais). Tal recurso destinou-se ao início das atividades necessárias à estruturação da terceira rede de pesquisas. Este relatório visa pois, descrever as ações tomadas pelo CPP no sentido de executar o proposto neste termo aditivo, perfazendo o período compreendido entre novembro de 2004 a setembro de 2005.

2. ATIVIDADES REALIZADAS

2.1 *Workshop*: "Agregando Valor aos Produtos Naturais do Pantanal"

Com o intuito de debater as oportunidades e os gargalos existentes para a utilização econômica da biodiversidade do Pantanal, realizou-se, no período de 22 a 23 de março de 2005, o *workshop* "Agregando Valor aos Produtos Naturais do Pantanal". Como poderá ser constatado pela programação exposta no **Anexo I**, o evento contou com a participação de pesquisadores de instituições públicas e privadas do Pantanal, além de representantes do poder legislativo, de ministérios e poder público estadual, de agências de fomento de MT e MS, além de representantes de empresas que atuam com bioprospecção. Foram debatidos os marcos legais que restringem e criam oportunidades para a área, como a MP 2186-16, a Lei de Inovação Tecnológica, a lei de Patentes e a Política Industrial do Governo Federal. As experiências de bioprospecção no Brasil, tanto do ponto de vista acadêmico quanto do ponto de vista empresarial, foram também expostas e discutidas, assim como as políticas de fomento à P&D acadêmico e empresarial.

Ao final, os representantes das instituições de P&D do Pantanal expuseram a infra-estrutura material e de RH disponível em suas instituições, assim como os principais aspectos da produção científica de cada equipe. A partir deste diagnóstico institucional concluiu-se que era viável a criação da Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal.

Constatada a viabilidade e o interesse dos presentes em executar ações conjuntas, ficou decidido que haveria a necessidade de um novo encontro para que fossem acordados os projetos em que se trabalharia. Ficou também acertado que as parcerias a serem formalizadas deveriam restringir-se a projetos visando a geração de produtos através da agregação de valor a espécies oriundas da flora pantaneira. Na fase preparatória deste novo encontro, cada instituição enviaria uma carta-proposta ao CPP (**Anexo II**), que, com base neste material, buscaria o apoio de um mediador profissional para a realização de um segundo *workshop*, onde seriam decididos os projetos a serem executados e as parcerias a serem formalizadas para a execução de tais projetos, no âmbito da parceria CPP-MCT.

Ao final do primeiro dia, foi realizado um encontro do CPP com os presidentes da FAPEMAT e da FUNDECT, além de representantes do MCT e do MI. Neste encontro o CPP expôs a proposta de dar início à terceira rede prevista no termo de parceria em vigência com o MCT e consultou os presentes sobre a possibilidade de apoio adicional. Os presidentes das duas FAPs estaduais concordaram em aportar recursos, na mesma proporção dos recursos aportados pelo MCT, conforme documentos disponíveis (**Anexo III**). Está-se, no momento, elaborando os instrumentos jurídicos necessários para formalizar esta nova parceria.

Estiveram presentes neste evento 30 representantes de 22 instituições, conforme a lista publicada (**Anexo I**)

2.2 Workshop: “Estruturação da Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal”

Este evento ocorreu na cidade de Campo Grande-MS, no período de 27 a 28 de maio de 2005. Para a facilitação do processo de discussão contratou-se o Instituto Publix, vencedor do processo de cotação realizado pelo CPP e cuja Proposta de Trabalho encontra-se no **(Anexo IV)**.

O objetivo do encontro, cuja programação está no **(Anexo IV)**, foi a estruturação da recém-criada “Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal”, estruturando um plano de ação para tal rede priorizando as propostas apresentadas pelos participantes e definindo um interlocutor para a rede. O resultado deste processo encontra-se no **(Anexo V)**. Este workshop foi atendido por 14 participantes, oriundos de 10 instituições. Ficou decidido que seriam elaborados dois projetos: o primeiro objetivando o desenvolvimento de um bioinseticida natural e o segundo objetivando o desenvolvimento de um fitoterápico (com ações anti-diabetes e anti-inflamatória); os dois produtos deverão ser gerados a partir de espécies oriundas da flora do Pantanal. A coordenação dos trabalhos para a elaboração e a execução do projeto de bioinseticidas ficou a cargo da equipe da UNIDERP (MS) e a coordenação dos trabalhos para a elaboração e execução do projeto de fitoterápicos, a cargo da equipe da UFMT. A coordenação da “Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal” ficou a cargo da UFMT. Os dois projetos foram elaborados pelas equipes responsáveis e encontram-se no **(Anexo VI)**.

3. CONCLUSÃO

Com estas ações o CPP dá cumprimento ao acordado no termo aditivo ao TP. A “Rede de Sustentabilidade de Alternativas Econômicas no Pantanal” está constituída, dois projetos foram elaborados e estão prestes a iniciar a execução, sendo que, no momento, aguarda-se a formalização de um instrumento jurídico entre o CPP, as instituições parceiras e os pesquisadores. Houve também um esforço, aparentemente bem sucedido, por parte do CPP, em alocar recursos adicionais aos alocados pelo MCT para a execução dos projetos da terceira rede.

ANEXO 1

**PROGRAMAÇÃO E LISTA DE
PARTICIPANTES DO *WORKSHOP*
“AGREGANDO VALOR AOS PRODUTOS
NATURAIS DO PANTANAL”**

**Workshop "Agregando Valor aos Produtos Naturais do Pantanal
De 22 a 23 de março de 2005
Pousada Penhasco – Chapada dos Guimarães**

PROGRAMA OFICIAL

DIA 22 DE MARÇO DE 2005 – Terça-feira

Das 08h às 09h – Solenidade de Abertura

Das 9h às 9h 30 – Palestra

"O Centro de Pesquisa do Pantanal" - Paulo Teixeira de Sousa Jr. – Secretário Executivo
– CPP

Das 9h 30 às 10h – Intervalo para café

Das 10h às 11h 40 – Painei

"Marcos Regulatórios"

- Política Industrial - Rogério Sampaio Parente Vianna – Gerente de Programa e
Comércio Eletrônico – MDIC

Lei da Biodiversidade – Maria Teresa Caldeira – Assessora Técnica do CGEN/SBF/MMA

- Lei de Patentes – Eury Pereira Luna Fiho – CNPq

- Regulamentação Fitoterapicos e Cosméticos – Edmundo Machado Netto – ANVISA

- Lei de Inovação – Elza Brito da Cunha – Assessora Técnica do PPS

Das 11h 40 às 12h 30 – Debates

Das 12h 30 às 14h – Intervalo para almoço

Das 14h às 15h – Palestra

"Bioprospecção no Brasil" – Dulce Helena Siqueira Silva – Professora da UNESP em
Química de Produtos Naturais

Das 15h às 15h 30 – Intervalo para café

Das 15h 30 às 17h 10 – Painei

"A Bioprospecção e as Empresas"

- Alberto Arruda – Coordenador da Central de Produção de Extratos do Centro de
Biotecnologia da Amazônia

- Antônio Paes de Carvalho – Diretor Presidente da Extracta Moléculas Naturais S/A

- Renata Campos Nogueira – Coordenadora P&D Laboratório Ache

Das 17h 10 às 18h – Debates

18h – Reunião FAP's, MCT e CPP (restrita)

DIA 23 DE MARÇO DE 2005 – Quarta-feira

Das 8h 30 às 9h – Palestra

“A Proposta do Programa Fitoplama – MT” – Mari Gemma De La Cruz – Secretária de Saúde/Fitoplama do Estado de Mato Grosso

Das 9h 30 às – Intervalo para café

Das 10h às 12h 00h – Painel

“Políticas e Programas de Fomento à P&D Acadêmica e Empresarial”

Ricardo Gattais – FINEP/RJ

Frederico Vitória Valente – Diretor Depto. de Desenvolvimento Regional – MI – Secretária do Centro-Oeste

Antônio Carlos Camacho – Presidente FAPEMAT

Fábio Edir dos Santos Costa – Diretor Presidente FUNDECT

- Arranos Produtivos

Francisco Hercílio da Costa Matos – Diretor do Depto. de Ações Regionais/ MCT

Valmir Ortega – Programa Pantanal – MMA

Das 12h às 12h 30 – Debates

Das 12h 30 às 14h – Intervalo para almoço

Das 14h às 15h – Painel

“P&D nas IES do Pantanal: A Capacidade Instalada”

UFMT; UFMS; UEMS; UNEMAT; UNIDERP; UCDB; EMBRAPA PANTANAL

Das 15h às 15h 30 – Intervalo para café

Das 15h 30 às 17h – Painel

“P&D nas IES do Pantanal: A Capacidade Instalada”

(continuação)

Das 17h às 19h 30 – Plenária de Encerramento – Próximos Passos

	PARTICIPANTE	INSTITUIÇÃO	E-MAIL	FONE
1	SANTINO SEABRA JUNIOR	UNEMAT	santinoseabra@hotmail.com	9989 3587
2	ANDERSON M. DO AMARAL	UNEMAT	andersonamaral@terra.com.br	223 9271
3	FABIO NOLASCO	UNEMAT	fabionol@terra.com.br	9966 0445
4	MARCILIO PEREIRA SOUSA	UNEMAT	marcilio@unemat.com.br	(66)521 2041
5	ARNO RIEDER	UNEMAT	rieder@terra.com.br	223 4414
6	JOAQUIM CURSINO DA SILVA LIMA	UFMT	joaquimslima@yahoo.com.br	615 8862
7	WILSON SILVA GARCEZ	UFMS	wgarcez@nin.ufms.br	(67)345 3559
8	MARCOS ANTONIO CAMACHO DA SILVA	UEMS	camacho@uems.ufms.br	(67)9971 1736 411 9087
9	ANTONIA ROELDA ROEL	UCDB	arroel@ucdb.br	(67)312 3596 9207 7674
10	ROSEMARY MATIAS COELHO	UCDB	rosematias@brturbo.com.br rosematias@yahoo.com.br	(67)9284 9391
11	CRISTIANA SANTOS DE MACEDO	UNIDERP	cristianamacedo@mail.uniderp.br	(67) 8118 6568
12	FREDERICO VITORIO VALENTE	MI	frederico.valente@integracao.gov.br	(61) 414 3654
13	LORISVAL T. VASCONCELOS	VASCONCELOS FLORESTAL	reflorestamento@netsite.com.br	(16) 9785 1706
14	AGNALDO MORAES DA SILVA	MI	agnaldo.moraes@integracao.gov.br	(61) 414 5634
15	MARIA TEREZA M. CALDEIRA	MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE	maria.caldeira@mma.gov.br	(61) 4009 9518
16	ROGÉRIO SAMPAIO P. VIANNA	MDIC	rvianna@mdic.gov.br	(61) 21097036
17	FABIO EDIR DOS SANTOS COSTA	FUNDECT	fundect_presidencia@net.ms.gov.br	(67) 351 2550
18	NAIR HONDA KAWASHITA	UFMT	nairhonda@terra.com.br	(65) 615 8765
19	UIR SANTANA FIGUEIREDO	UFMT	uirsf@cpd.ufmt.br	(65) 615 8763
20	EVANDRO LUIZ DALL`OGLIO	UFMT	eldo13@terra.com.br	(65) 615 8798
21	ALBERTO CARDOSO ARRUDA	CBA	alberto.cba@suframa.gov.br	(92) 237 3870
22	PIERRE GIRARD	UFMT	pgirard@terra.com.br	(65) 615 8005
23	DOLORES AP. V. VASCONCELOS	VASCONCELOS FLORESTAL		(16) 3242 2975
24	RENATA CAMPOS NOGUEIRA	LABORATORIO ACHÉ	renata.nogueira@ache.com.br	(11) 64618190
25	DOMINGOS TABAJARA O. MARTINS	UFMT	taba@terra.com.br	(65) 6158852
26	ANTONIO PAES DE CARVALHO	EXTRACTA	apc@extracta.com.br	(21) 38675608
27	CLAUDIA ANDREIA LIMA CARDOSO	UEMS	claudia@vems.br	(67) 4119145
28	ROSANNA MARQUES MUZZI	UCDB	rmuzzi@ucdb.br	(67) 3123446
29	EURY PEREIRA LUNA FILHO	CNPq- SESPI/PROJUR	eluna@cnpq.br	(61) 21089307
30	LUIZ CARLOS DE MIRANDA JOELS	MCT	joels@mct.gov.br	(61) 3177401
31	ANTONIO CARLOS CAMACHO	FAPEMAT	antoniocamacho@fapemat.gov.br	(65) 6133500
32	DULCE HELENA SIQUEIRA SILVA	IQ-UNESP- ARARAQUARA	dhsilva@iq.unesp.br	(16) 33016659
33	FRANCISCO HERCILIO DA COSTA M.	MCT/SECIS	fmatos@mct.gov.br	(61) 3211670
34	SONIA MARIA JIN	SEPLANCT/SUCT/M S	smjin@net.ms.gov.br	(67) 3184029
35	NAIR BIZAO	UFMT-PONTAL DO ARAGUAIA	nair.bizao@ibest.com.br	(66) 4013673
35	PAULO TEIXEIRA DE SOUSA JR	CPP/UFMT	Teixeira@cpd.ufmt.br	(65) 615 8182
36	MARIA LUIZA BRAZ ALVES	MCT	mluiza@net.com.br	(61)3177401
37	MARI GEMMA DE LA CRUZ	SES-FITOPLAMA	marigema@terra.com.br	
38	ELZA BRITO DA CUNHA	CAMARA/PPS	Elza.cunha@camara.gov.br	(61) 2743973

ANEXO 2

CARTAS-PROPOSTA ENCAMINHADAS PELAS INSTITUIÇÕES

CARTA-PROPOSTA 1 – EMBRAPA PANTANAL

Título: Prospecção e produção de plantas medicinais no Pantanal com ênfase na domesticação das espécies Nód- Cachorro (*Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach.) e Gingeng- brasileiro (*Pffafia glomerata* Spreng Petersen).

1. Introdução

A busca na biodiversidade de recursos genéticos e bioquímicos que possam ser transformados em produtos comercializáveis tem sido um tema desenvolvido a várias décadas e hoje as empresas farmacêuticas e os institutos de pesquisa voltados para as áreas da saúde são os que mais se dedicam a esta atividade. O que tem ocorrido é que os países detentores de tecnologias de produção de medicamentos, geralmente são pobres em biodiversidade. Desta forma lançam mão de espécies da biodiversidade de países em desenvolvimento, tornando-se detentores das patentes. Os biomas Pantanal e Amazônia por sua rica biodiversidade tem estado na mira dos países desenvolvidos. Uma das formas de preservar esta biodiversidade é dar valor 'as espécies estudadas ou não, através da bioprospecção.

2. Justificativa

No Pantanal, muitas plantas são usadas como medicinais pela população pantaneira, destas algumas já tiveram seus princípios ativos identificados como o ginseng (*Pffafia glomerata*) e o nó de cachorro (*Heteropterys aphrodisiaca*), necessitando, no momento, de pesquisas sobre as melhores técnicas de propagação e cultivo, bem como de domesticação. Enquanto que outras, como o a *Machaerium hirtum* (Barreiro, barreirinho) cujas indicações populares são até mesmo contra o cancer, além do tradicional uso como anti-diarreico (POTT et al., (1994) e a *Fagara* spp., espécies ainda estão em fase de estudos de identificação e isolamento de princípios químicos e farmacológicos (SAITO, comunicação pessoal). Além disso, há espécies que necessitam de prospecção para determinação de suas áreas de ocorrência do Pantanal, como é o caso e seu potencial de utilização, uma vez que tem sido correntemente utilizadas no âmbito da Farmácia Viva como no caso da *Egletes viscosa* (L.) Less, da família

Compositae que ocorre nas margens alagáveis do rio Cuiabá e no Ceará, onde é muito utilizada tem o nome de macela-da-terra ou, simplesmente macela e é uma das plantas mais afamadas na medicina popular nordestina, como excelente estomáquico e antidiarrêico (Matos, comunicação pessoal). O projeto tem como **objetivo geral** realizar prospecção, estudos etnobotânicos e desenvolver técnicas de propagação de plantas medicinais transferindo esta tecnologia para pequenos agricultores de modo a atender ao mercado de fitoterápicos, agregando valor as espécies da biodiversidade. Como **objetivos específicos** o projeto pretende: Realizar prospecção de plantas com potencial de utilização fitoterápico na região do Pantanal do município de Corumbá; desenvolver técnicas de propagação de Nó-de-cachorro (*Heteroptryx aphrodisiaca* O. Mach.) e Ginseng brasileiro (*Pffafia glomerata* Spreng Petersen) elaboração de fitoterápicos, de acordo com as Boas Práticas Agrícolas; estudar as características reprodutivas e dados de distribuição e ocorrência, bem como sementes e partes vegetativas de plantas nativas na área em estudo; estudar a propagação do “nó-de-cachorro” e da *Pffafia glomerata*, reprodução sexuada e/ou assexuada, buscando-se a forma mais adequada para ser utilizada em casa de vegetação; avaliar a forma mais viável de se formar mudas de “nó-de-cachorro” e *Pffafia glomerata* com experimentações em casa de vegetação; testar as formas viáveis de propagação e formação de mudas de “nó-de-cachorro” *Pffafia glomerata* e orientar esta transferência de tecnologia para pequenos agricultores; instalar Unidades de demonstração para plantas medicinais na Embrapa Pantanal, no Campus do Pantanal da UFMS e pequenas propriedades do município de Corumbá; estimular e orientar a formação de farmácias-vivas em assentamentos rurais ou comunidades tradicionais no Pantanal e resgatar através de uma abordagem Etnobotânica, conhecimentos tradicionais sobre uso e manejo das espécies; realizar estudos de etnobotânica das plantas medicinais utilizadas pela população do Pantanal do município de Corumbá; formar uma equipe que possa conduzir estudos de bioprospecção da biodiversidade vegetal com enfoque nas plantas de potencial fitoterápico do Pantanal de Mato Grosso do Sul e capacitar agricultores selecionados e suas famílias na produção de plantas medicinais de maior demanda comercial em assentamentos rurais, pequenas propriedades e outras comunidades,

dentro das normas de Boas práticas agrícolas, visando o uso de espécies da flora local e na organização

O orçamento solicitado para investimento é de R\$ 19.500,00; custeio: 68.000,00 (incluindo bolsistas), perfazendo um total de R\$ 87500,00.

A Equipe Proponente são os pesquisadores:

Marçal Henrique Amici Jorge : **coordenador do projeto**; Mestre em Agronomia/Fitotecnia; Doutorando Plant Science (EUA, 2005); Instituição: Embrapa Pantanal; Função no projeto: coordenação e domesticação das espécies ; **Mário Soter França-Dantas**; Doutor; Instituição: Embrapa Transferência de Tecnologia/Gerência de Sementes e Mudanças; Função no projeto: Transferência de tecnologia e apoio a instalação da Farmácia Viva; **Sandra Aparecida Santos**; Doutor; Instituição: Embrapa Pantanal; Função no Projeto: Coleta de germoplasma; **Ieda Maria Bortolotto**; Mestre em Educação: Área de Educação e Meio Ambiente; Função no Projeto: Pesquisadora; Etnobotânica das espécies estudadas e Participação na formação de Farmácias Vivas; **Francisco Abreu Matos**; Farmacêutico; Instituição: Farmácia Viva do Nordeste; Função no Projeto: Orientar a implantação da Farmácia Viva do Pantanal no Município de Corumbá; **Maria Lúcia Saito**: Doutor em Química Orgânica (fitoquímica); Instituição: Embrapa Meio Ambiente; Função no Projeto: Extração de princípios ativos das plantas de maior potencial; **José Aníbal Comastri Filho**; Instituição: Embrapa Pantanal; Mestre em agronomia; Função no projeto: Prospecção, Coleta de germoplasma e ensaios em casa de vegetação; **Susana Maria de Salis**; Doutora em Ecologia; Função no Projeto: Estudos fenológicos das espécies priorizadas Parte deste projeto foi aprovado pela FUNDECT/MS e pelo Macroprograma 3 da Embrapa e já se encontra em fase de implantação.

Com relação aos **impactos e resultados esperados** este projeto possibilitará conhecer as formas mais apropriadas de propagação e formação de mudas de espécies medicinais o que possibilitará a preservação e conservação de ambas as espécies e a agregação de valor ao sistema de produção com a transferência destas tecnologias a pequenos agricultores. A implantação da Farmácia Viva e o resgate do conhecimento

tradicional, poderá beneficiar comunidades de difícil acesso que carecem de assistência médica regular e com a formação de novas competências na área poderemos fortalecer no estado esta linha de pesquisa.

Atendimento aos critérios aprovados no CPP: origem vegetal; origem pantanal; aderência às políticas públicas; priorizar as pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial.

CARTA-PROPOSTA 2- EMBRAPA PANTANAL

Título: Prospecção e desenvolvimento de produtos alimentares de origem vegetal a partir da biodiversidade do Pantanal

Líder da proposta: Jorge Antonio Ferreira de Lara - Embrapa Pantanal

1. Introdução

O Pantanal é adequado para a produção de alimentos em virtude de suas características geográficas e biodiversidade presente. Existe na região determinados alimentos que são consumidos pela comunidade local a muito tempo e podem se tornar uma fonte de recursos para a população bem como oportunidade de negócios para empresas que estejam dispostas a investir nesse mercado. Entre as plantas que servem como alimento na região e representam hipóteses de aproveitamento tem-se a bocaiúva (*Acrocomia aculeata*), o jenipapo (*Genipa americana*), o cumbaru (*Dipteryx alata*) e o araticum (*Annona dioica*), para citar apenas alguns exemplos.

Destacamos que já existem alguns produtos, como a farinha de bocaiúva, que estão organizados em cadeias produtivas, muito frágeis ainda, mas com experiências positivas que atestam a possibilidade de a partir de matéria-prima natural, obtida de forma extrativista e manufaturada artesanalmente é possível chegar a uma diversificação de produtos finais que possam ser absorvidos regularmente na dieta das pessoas.

2. Justificativa

A Embrapa Pantanal em 1994 editou o livro Plantas do Pantanal (Pott e Pott, 1994). Neste trabalho que disponibilizou informações recolhidas pela equipe por 20 anos de ativa ação no Pantanal é possível dimensionar a variabilidade existente no ecossistema, onde 520 espécies diferentes do reino vegetal estão catalogadas. Em 2004 a unidade da Embrapa de Corumbá incluiu o tema ciência e tecnologia de alimentos em seus objetivos estratégicos iniciando a formação de equipe deste tema na unidade.

Ao confrontarmos o catálogo etnobotânico com o direcionamento estratégico da empresa para curto e longo prazo, a pouca informação bibliográfica técnica existente sobre a biodiversidade vegetal sua produção e valor nutricional nos parece claro que o

assunto deva ser incluído nos conjuntos de projetos da unidade e reconhecido no estabelecimento de relações com potenciais parceiros.

3. Objetivos e Orçamento

Objetivo Geral

Agregar valor aos produtos vegetais e naturais do Pantanal através da produção de alimentos.

Objetivos específicos

Pretendemos realizar a proposta em cinco etapas, cada uma delas correspondente a um objetivo específico:

3.1. Resgatar, na cultura tradicional do Pantanal Sul, os alimentos historicamente consumidos na região. Custo aproximado do objetivo específico: R\$ 4.000,00.

3.2. Elaborar uma lista com algumas plantas potenciais para a dieta humana, após consulta a cultura tradicional e as informações disponíveis na literatura e na Embrapa Pantanal. Custo aproximado do objetivo específico: sem custo.

3.3. Análise centesimal, incluindo o perfil de ácidos graxos das partes comestíveis de quatro plantas escolhidas entre aquelas listadas no objetivo anterior. Custo aproximado do objetivo específico: R\$ 15.000,00.

3.4. Desenvolvimento de uma linha de produtos alimentares a partir de duas plantas com potencial agroindustrial, dentre aquelas analisadas no objetivo anterior. Custo aproximado do objetivo específico: R\$ 35.000,00

3.5. Estudar os custos operacionais e a viabilidade econômica da implementação da produção da linha de produtos alimentares derivados de um dos vegetais escolhidos no objetivo específico anterior. Custo aproximado do objetivo específico: R\$ 2.000,00.

Adicionalmente aos custos dos objetivos específicos solicitaremos ao CPP mais R\$ 10.000,00 para financiar uma bolsa para estagiário graduando em Ciências Biológicas e mais R\$ 5.000,00 para compra de material bibliográfico. Custo total aproximado da proposta: **R\$ 56.000,00.**

4. Equipe Proponente

Gercilene Teixeira da Costa, Mestre em Antropologia e Pesquisadora da Embrapa Pantanal; Jorge Antonio Ferreira de Lara, Doutor em Ciência de Alimentos e Pesquisador da Embrapa Pantanal; Ricardo Yassushi Inamasu, Doutor em Engenharia Mecânica e Pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária; Rosemar Antoniassi, Doutora em Ciência de Alimentos e Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos; Suzana Maria de Salis, Doutora em Botânica e Pesquisadora da Embrapa Pantanal e Vanderlei Doniseti Acácio dos Reis, Mestre em Ciências Agrônômicas e Pesquisador da Embrapa Pantanal

5. Estágio da Pesquisa

De forma geral, a pesquisa apresenta-se em estágio inicial, onde a equipe foi recentemente formada. Entretanto, pretende-se com pelo menos duas plantas do Pantanal chegar a uma linha de produtos agroindustriais desenvolvidos.

6. Resultados e Impactos Esperados

Esperamos com esta proposta iniciar uma linha de pesquisa que envolva diversas instituições e que esteja focada em alimentos de origem vegetal e na sustentabilidade do ecossistema pantaneiro. Acreditamos que caso a nossa proposta seja aprovada será possível criar condições e experiência suficientes para a produção de processos agroindustriais, publicações técnicas internas e externas a Embrapa, treinamento de estagiários e participação em eventos para a divulgação dos resultados.

Tão importante quanto à produção bibliográfica será o resgate do conhecimento tradicional do Pantanal em relação aos alimentos, o registro da cultura local e o intercâmbio com a indústria do turismo que pode ver na parceria CPP/Embrapa uma oportunidade de incrementar o arsenal de recursos para a distração dos visitantes. Também esperamos sensibilizar os gestores do CPP para o potencial para a produção de alimentos no Pantanal, a abordagem estratégica do apoio a este tema, compatível com as políticas públicas de combate a fome e principalmente seria mais um elo para integrar as duas principais entidades brasileiras em ação no Pantanal.

CARTA-PROPOSTA 3 - EMBRAPA PANTANAL

Título: Calendário Apibotânico e Palinoteca para a Nhecolândia e os Assentamentos Rurais de Corumbá e Ladário, MS.

1. Introdução

O Pantanal é considerado a maior área contínua inundável do planeta sendo formado por uma extensa planície localizada no centro da América do Sul. O potencial dos recursos naturais desse bioma é vasto, destacando-se a flora que é composta por espécies pertencentes a quatro biomas: Amazônia, Cerrado, Chaco e Mata Atlântica, estando catalogadas quase 1800 espécies de plantas, muitas das quais possuem exemplares armazenados no herbário da Embrapa Pantanal (CPAP).

No entanto, a principal atividade econômica tradicionalmente desenvolvida na planície pantaneira é a pecuária de corte com reduzidos índices de produtividade. Outras ocupações econômicas importantes para a região são a mineração (ferro e manganês) e a pesca profissional e esportiva (a qual tem favorecido o incremento do turismo na região).

Nesse sentido a apicultura representa grande potencial econômico para o Pantanal em função de características da atividade que são vantagens competitivas em relação a outras ocupações econômicas tradicionais do meio rural: necessidade de pequenas áreas para a instalação das colméias, ciclo curto, exigência de pequenos valores de capital inicial e de recursos para o custeio de manutenção, entre outras características.

A consolidação da apicultura poderá contribuir para a multifuncionalidade produtiva e, conseqüentemente, aumentar a viabilidade econômica das propriedades tradicionais que atualmente está muito comprometida. Essa atividade também poderá favorecer a geração de empregos, melhor a renda das famílias de pequenos proprietários (assentados rurais). Além disso, pode se tornar mais uma ocupação econômica a ser desenvolvida pelos pescadores, principalmente na época do defeso da piracema.

A apicultura é uma atividade econômica de baixo impacto ambiental que possibilita a utilização permanente dos recursos naturais, conservando o meio ambiente (exceto nos possíveis casos de competição direta das abelhas africanizadas - *Apis mellifera* - com as espécies de abelhas autóctones) e pode agregar esse "marketing ecológico" aos

produtos apícolas obtidos, pois a produção de mel oriundo de floradas silvestres é cada vez mais escassa no Brasil e no mundo.

O pólen é encontrado na forma de grãos microscópicos contidos nas anteras dos estames florais. As abelhas africanizadas ao coletarem o néctar das flores, involuntariamente, coletam também o pólen, sendo este regurgitado juntamente com o néctar nos alvéolos melíferos. Desta maneira o pólen aparecerá no mel, constituindo-se um importante indicador da sua origem botânica e geográfica, pois é o produto apícola que apresenta maior diversidade em função da sua forma de obtenção.

2. Justificativa

A apicultura pode ser desenvolvida simultaneamente com a bovinocultura de corte no Pantanal. Dessa forma, pode representar uma promissora fonte de divisas para essa região, através da materialização desse potencial em grandes quantidades de mel e dos demais produtos apícolas que, no entanto, devem atender aos crescentes níveis de qualidade (rastreadabilidade da produção, entre outros itens) exigidos, cada vez mais freqüentemente, pelos mercados interno e/ou externo.

Contudo, o potencial apícola dessa região ainda é pouco aproveitado e alguns ajustes necessitam ser realizados no atual sistema produtivo da apicultura, pois muitas das tecnologias utilizadas pelos produtores locais são baseadas em conhecimentos empíricos e adaptações de técnicas adotadas em outras regiões do país e, que por alguns casos de insucesso no passado recente, não se mostraram adequadas a esse complexo bioma. Nesse sentido, duas grandes contribuições da pesquisa com a flora pantaneira, para o desenvolvimento da apicultura na região, serão a elaboração de um calendário apícola (apibotânico) e de uma palinoteca (coleção de lâminas com amostras de polens coletados nos méis e/ou diretamente nas próprias flores das plantas que são visitadas pelas abelhas africanizadas) que são ferramentas de suma importância para se determinar o potencial de produção da atividade e realizar a determinação da origem geográfica e/ou botânica dos méis obtidos.

A constatação pela Embrapa Pantanal do potencial e das limitações da apicultura na região, anteriormente descritas, motivaram a implantação, no final de 2002, desta área de pesquisa nesta unidade da Embrapa.

3. Objetivos e Orçamento

3.1 Objetivos

Objetivo Geral:

Buscar soluções para alguns gargalos tecnológicos que limitam o desenvolvimento da apicultura e contribuir para o aproveitamento racional e sustentável dos recursos vegetais nativos (no Pantanal da Nhecolândia) e/ou exóticos (nos assentamentos rurais de Corumbá e Ladário) em algumas regiões de influência do Pantanal brasileiro.

Objetivos Específicos:

Realizar o estudo da flora apícola no Pantanal da Nhecolândia e nos assentamentos rurais de Corumbá e Ladário, através da catalogação das espécies vegetais que são fontes de recursos (néctar, pólen e/ou resinas) para as abelhas africanizadas;

Elaborar calendários apícolas, indicando os períodos de floração e frutificação das espécies vegetais de interesse para as abelhas africanizadas e elaborar mapas apibotânicos georreferenciados para as duas regiões estudadas;

Elaborar uma coleção palinológica (palinoteca) de referência para as duas regiões estudadas que possibilite a identificação de amostras de méis produzidas nestas áreas quanto a sua origem botânica e/ou geográfica.

3.2 Orçamento

Item de dispêndio	Instituição Beneficiada	Valores (R\$)
Infra-estrutura	Embrapa Pantanal	80.000,00
Microscópio	Embrapa Pantanal	6.500,00
Reagentes e materiais diversos	Embrapa Pantanal/FIOCRUZ	10.000,00
GPS	Embrapa Pantanal	1.500,00
Combustível	Embrapa Pantanal	2.000,00
Bolsistas	Embrapa Pantanal/FIOCRUZ	15.000,00
Passagens áreas e materiais diversos	FIOCRUZ	15.000,00
Total		130.000,00

4. Equipe Proponente

Pesquisador	Instituição	Área	Titulação - Função
Jorge Antonio Ferreira de Lara	Embrapa Pantanal	Ciência de Alimentos	Doutor - d
Sérgio Augusto de Miranda Chaves	FIOCRUZ	Palinologia	Doutor - c
Suzana Maria de Salis	Embrapa Pantanal	Biologia Vegetal	Doutor - b, c
Vanderlei Doniseti Acassio dos Reis	Embrapa Pantanal	Apicultura	Mestre - a, c

a. Líder do projeto; b. Coordenadora substituta do projeto; c. Responsável por atividades; d. Colaborador.

5. Estágio da Pesquisa

A elaboração da palinoteca está em fase inicial.

Em relação às plantas apícolas da região, já há informações disponíveis na literatura. No entanto, o calendário apibotânico está em estágio inicial de desenvolvimento.

Os produtos que serão decorrentes da execução dessa proposta servirão de subsídios para a consolidação da apicultura na região e, provavelmente não haverá registro e/ou concessão de patentes.

6. Resultados e Impactos Esperados

Em levantamentos preliminares de plantas apícolas no Pantanal, já foram identificadas 162 espécies distribuídas em 54 famílias botânicas. No entanto, não foi elaborado um calendário apícola.

Portanto, ainda não foram definidos os períodos de produção e de entressafra nas duas regiões em estudo e que permitirão o gerenciamento mais adequado do sistema produtivo para a instalação, o manejo e as demais ações relacionadas com as abelhas africanizadas.

A palinoteca será utilizada para a identificação da origem botânica e/ou geográfica do mel. Dessa forma, pode garantir a diferenciação qualitativa e a determinação de algumas propriedades desse produto e favorecer a comercialização do mesmo no mercado nacional e/ou internacional.

7. Atendimento aos Critérios do CPP

Essa proposta atende a todos os critérios estabelecidos pelo CPP, no item "6. AVALIAÇÃO DE MÉRITO", para a "seleção de propostas para o sub-programa biodiversidade vegetal".

CARTA-PROPOSTA 4 – EMBRAPA PANTANAL

Título: Caracterização e avaliação de gramínea nativa (*Mesosetum chaseae*) visando domesticação e manejo no Pantanal arenoso

Justificativa:

A produção sustentável do gado de corte em pastagem deve procurar otimizar o uso das pastagens e reduzir a dependência de insumos externos, como o uso de adubação, suplementos, etc. Portanto, uma produção sustentável só é obtida quando se faz uso de espécies vegetais e animais adaptados ao ambiente. Embora já haja levantamentos e informações sobre as espécies forrageiras nativas em potencial do Pantanal, há uma carência de conhecimentos sobre cultivo e manejo do germoplasma forrageiro nativo. Allem e Valls (1987) caracterizaram os principais recursos forrageiros do Pantanal, onde identificaram várias gramíneas com potencial para cultivo. Eles consideraram irresponsabilidade descartar a utilização de material forrageiro que sequer foi estudado e cujo potencial de aproveitamento é ignorado. Segundo Pereira (2002) nos diversos ecossistemas nacionais é possível encontrar plantas com características adaptativas vantajosas e que podem ser aproveitadas para o desenvolvimento de cultivares de forrageiras superiores. Estas espécies nativas constituem num tesouro genético, representado pelos seus genes, moldados por milhões de anos de evolução. Atualmente, nota-se uma preocupação crescente com as forrageiras nativas, especialmente visando programas futuros de melhoramento com o possível emprego da biotecnologia, como também visando a conservação da biodiversidade.

No Pantanal, na última listagem efetuada por Pott e Pott (1999), a flora apresentou 1.863 espécies, pertencentes a 774 gêneros e 136 famílias. A família mais numerosa é a das leguminosas com 240 espécies, seguida das gramíneas, com 212 espécies, e ciperáceas, com 92 espécies. Na região, a pecuária de corte é desenvolvida há cerca de dois séculos. Desde então, o gado é criado extensivamente em grandes áreas, vivendo em harmonia com o meio ambiente, porém, com índices zootécnicos relativamente baixos. No entanto, nos últimos anos, vêm crescendo as pressões econômicas para aumento da produtividade aliada com a conservação ambiental. Estas pressões vem agravando ainda mais os efeitos da redução da capacidade produtiva das fazendas

devido à divisão constante das terras, por venda ou herança. Estes fatores vêm ameaçando a sustentabilidade do sistema devido à introdução de tecnologias com impactos negativos (p.ex.: desmatamento das áreas de cordilheiras para implantação de pastagens) por parte de muitos produtores (Junk e Silva, 1999; Júnior, 1997).

A produtividade animal ainda é baixa devido a vários problemas, especialmente subnutrição do gado em determinadas épocas do ano em razão da estacionalidade das pastagens nativas (época de cheia e seca), como também ao manejo inadequado das pastagens, cujo sistema de pastejo contínuo em grandes áreas permite que o bovinos sejam seletivos, ocasionando áreas subpastejadas (formação de “macegas”) e superpastejadas (áreas degradadas). Uma das alternativas usadas para melhorar a distribuição do pastejo é a introdução de espécies forrageiras nas áreas de “macegas”, ou seja, pouco usadas para pastejo, como as áreas com predominância de capim-carona (*Elyonurus muticus*), capim-vermelho (*Andropogon hypogynus*) e capim fura-bucho (*Paspalum lineare*), geralmente manejadas através de queima controlada. As principais espécies usadas no cultivo são do gênero *Brachiaria*, adaptadas a estes solos, geralmente arenosos e de baixa qualidade. Entretanto, há poucos estudos sobre cultivo de espécies nativas nestas áreas. Recentemente, a Embrapa lançou o capim Pojuca (*Paspalum atratum*), cultivar adaptada às áreas úmidas ou alagadiças, especialmente do Pantanal, que tem mostrado superioridade em produção de matéria seca e qualidade nutritiva em relação à *Brachiaria humidicola*, espécie exótica adaptada às condições brasileiras (Pereira, 2002). No entanto, esta espécie não mostrou boa adaptação em áreas mais altas (livres de inundação) em solos arenosos e pobres, comuns na sub-região da Nhecolândia, tais como nas áreas com predominância de capim vermelho, carona e fura-bucho. Portanto, outras espécies nativas deveriam ser estudadas para serem cultivadas ou manejadas nestas áreas.

Santos et al. (2003) avaliando as espécies nativas resistentes a seca extrema na sub-região da Nhecolândia, identificou a grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) como espécie potencial para domesticação, pois além de tolerante à seca, é uma espécie adaptada a solos pobres, apresenta média qualidade, boa produtividade de matéria seca e é altamente consumida por bovinos. Portanto, esta espécie pode ser cultivada em

áreas de “macegas”, onde somente a *Brachiaria* spp. tem mostrado adaptação. Portanto, estudos de adaptabilidade ao cultivo são necessários para demonstrar o potencial desta espécie.

Outro desafio enfrentado pelos produtores do Pantanal é a recuperação de pastagens degradadas, cujas principais causas são decorrentes da alta taxa de lotação, hábito seletivo dos animais, que concentram-se em áreas de pastagens de melhor qualidade e locais onde ocorrem queimadas regulares. A ressemeadura ou plantio de espécies nativas nestas áreas degradadas pode ser uma alternativa válida tanto para recuperação como para o melhoramento das pastagens nativas. Segundo Allem e Valls (1987), a ressemeadura possibilita um aumento da densidade dos indivíduos, aumentando a capacidade de suporte. A grama-do-cerrado é uma espécie que apresenta potencial de recuperação de áreas degradadas, pois devido ao seu hábito estolonífero, tem a capacidade de cobrir grandes áreas. Portanto, é necessário primeiramente conhecer o modo de adaptabilidade e cultivo desta espécie e a capacidade de dominância/recuperação de áreas degradadas para depois propor um manejo adequado deste recurso forrageiro.

Objetivo Geral:

Caracterizar e avaliar estratégias de cultivo e manejo para a grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) nas áreas arenosas da sub-região da Nhecolândia, Pantanal e implantar um banco de germoplasma “in situ” com a utilização de diferentes acessos obtidos na região.

Objetivos específicos:

- Avaliar o potencial de cultivo da grama-do-cerrado para recompor e ampliar áreas de campo limpo pouco usadas para pastejo;
- Avaliar o potencial de cultivo da grama-do-cerrado para recompor áreas de pastagens degradadas, especialmente invadidas pela malva (*Walteria albicans*);
- Avaliar o potencial de uso da grama-do-cerrado por meio de estratégias de manejo (uso de veda) para posterior uso em épocas de restrição alimentar;
-

- Avaliar a recuperação de áreas com diferentes graus de degradação após o plantio direto da grama-do-cerrado;
- Avaliar a taxa de germinação e a viabilidade das sementes de *M. chaseae*;
- Estudar a morfologia das sementes e plântulas e a maturidade fisiológica das sementes em laboratório;
- Avaliar a distribuição de *M. chaseae* na sub-região da Nhecolândia e coletar indivíduos (acessos) para caracterização anatômica, vegetativa e reprodutiva;
- Implantar um banco de germoplasma "in situ na fazenda Nhumirim, sub-região da Nhecolândia, Pantanal arenoso, de plantas de *M. chaseae* provenientes de diversas fitofisionomias e sub-regiões do Pantanal.

Orçamento:

Custeio: 12.000,00 / Capital : 19.000,00

Total: 31.000,00

Equipe Proponente:

Sandra Aparecida Santos (coordenadora do projeto) – pesquisadora da Embrapa Pantanal

Titulação: Doutorado (Brasil, 2001)

CPF: 067608168-11

Rua Antônio João, 08 casa 2, CEP 79302-00, Corumbá, MS

Área de especialização: Manejo de pastagens

Função no projeto: coordenação e levantamento dos locais de ocorrência da grama-do-cerrado no Pantanal

Evaldo Luís Cardoso – Embrapa Pantanal

Mestre em Agronomia

CPF:664.755.546-34

Função no projeto: análise dos solos para caracterização física, química e biológica dos solos nos diferentes locais de ocorrência da grama-do-cerrado.

Eder Luiz Zambelli Fatah – aluno da UCDB/IESPAN

Acadêmico do curso de Zootecnia – bolsista do CNPq/FUNDECT

CPF: 000193361-28

Função no projeto: avaliação da produção e qualidade das sementes da grama-do-cerrado

Nazira Ahmed Cheikh – aluna da UCDB/IESPAN

Acadêmica do curso de Zootecnia – bolsista do CNPq/FUNDECT

CPF: 558422911-34

Função no projeto: análise morfológica de diferentes populações da grama-do-cerrado

Liana Junk – Embrapa Gado de Corte

Doutorado em Melhoramento de forrageiras

CPF: 031120498.88

Função no projeto: auxiliar na caracterização e seleção da grama-do-cerrado para futuros trabalhos de melhoramento

Maria da Graça Moraes – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

CPF: 126.981.211-49

Doutorado em Nutrição de Ruminantes

Função no projeto: análise da digestibilidade da grama-do-cerrado

José Aníbal Comastri Filho – Embrapa Pantanal

Mestre em agronomia

CPF: 180.751.266-53

Função no projeto: implantação do banco de germoplasma na faz. Nhumirim, sub-região da Nhecolândia, MS.

Juliana Magalhães Alvarez

Doutoranda do IB, UNESP, campus de Botucatu

Função no projeto: análise anatômica de diferentes populações da grama-do-cerrado

Estágio da pesquisa

Parte deste projeto foi aprovado no ano passado pela FUNDECT/MS e este ano foi enviado para o Macroprograma da Embrapa. Até o presente foram implantados alguns experimentos na fazenda Nhumirim de cultivo, diferimento para a produção de feno-empé e potencial para recuperação de pastagens degradadas. Vários trabalhos já foram publicados e apresentados em Simpósios mostrando o potencial desta espécie para o Pantanal arenoso.

Resultados e Impactos Esperados

- Estabelecer técnicas viáveis e sustentáveis de cultivo da grama-do-cerrado nas áreas pobres e arenosas do Pantanal, onde atualmente são as braquiarias são bem sucedidas. Além da conservação de uma espécie forrageira nativa, a possibilidade de cultivo desta espécie será uma nova opção para o produtor pantaneiro
- Estabelecer práticas de recuperação de campo cerrado degradadas através do plantio direto da grama-do-cerrado. Muitas áreas do Pantanal estão degradadas devido a condições climáticas e manejo inadequado. A recuperação destas áreas aumentará a capacidade de suporte, conseqüentemente, proporcionando sustentabilidade econômica e ambiental.
- Estabelecer estratégias de manejo de veda para áreas com predominância da grama-do-cerrado visando sua utilização nas épocas de restrição alimentar . esta técnica reduzirá a perda de peso dos animais em épocas de restrição alimentar
- Diversificar a variabilidade das pastagens cultivadas no Pantanal e provavelmente outras regiões, contribuindo para um menor risco genético das pastagens e maior utilização e valorização dos recursos genéticos nativos.
- Formar uma equipe multidisciplinar que atuem na caracterização, melhoramento e manejo da gramínea do gênero *Mesosetum*, como também de outras espécies nativas em potencial do Pantanal.
- Formação de alunos bolsistas com a elaboração de monografias, dissertações de Mestrado e teses de Doutorado.

Atendimento aos critérios aprovados no CPP

- origem vegetal;
- origem pantanal;
- aderência às políticas públicas;
- produto com potencial comercial e impacto econômico-social-ambiental;
- reunir o maior número de especialistas;
- priorizar as pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial.

CARTA-PROPOSTA – UFMT

VISANDO A SELEÇÃO DE PROPOSTAS PARA A REDE PANTANEIRA DE BIOPROSPECÇÃO (SUB-PROGRAMA BIODIVERSIDADE VEGETAL) DO CENTRO DE PESQUISAS DO PANTANAL

Tema: DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS

1. Projetos de pesquisa:

- Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do extrato etanólico de *Echinodorus macrophyllus* Michell (prioridade 1);
- Desenvolvimento de fitoterápico analgésico, antiinflamatório e cicatrizante de ferida a partir do látex de *Croton urucurana* Baillon (prioridade 2);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório sistêmico e analgésico a partir do extrato etanólico de *Bowdichia virgiloides* H.B.K. (prioridade 2);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato metanólico de *Lafoensia pacari* St. Hil. (prioridade 2);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de *Simaba ferruginea* St.Hil. (prioridade 1);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e antiúlcera a partir do extrato metanólico de *Stryphnodendron adstringens* (prioridade 2);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório, analgésico e antipirético a partir do extrato metanólico de *Cariniana rubra* Gardner ex Miers (prioridade 2);
- Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório tópico a partir do extrato aquoso de *Lychnophora ericoides* M. (prioridade 3);
- Desenvolvimento de fitoterápico com atividade antidiabética a partir do extrato etanólico de *Vatairea macrocarpa* Benth Duck;
- Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a Partir de *Acosmim dasycarpum* Yakovlev (Perobinha do Campo) – (Prioridade 1).

Introdução

- Eixos da proposta:

Os projetos selecionados abaixo e com **prioridade 1** apresentam todas as características referidas no item 6.

1. Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do extrato etanólico de *Echinodorus macrophyllus* Michell;
2. Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de *Simaba ferruginea* St.Hil.;
3. Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a Partir de *Acosmim dasycarpum* Yakovlev (Perobinha do Campo);

Justificativa

Os 3 projetos envolvem plantas medicinais presentes no pantanal matogrossense. A linha de pesquisa é prioritária na UFMT, no estado de Mato Grosso e no Brasil. O desenvolvimento de um fitoterápico envolveria toda a cadeia produtiva e certamente geraria renda para todos e permitiria a expansão de grupos de pesquisa já atuantes no Estado e programas de pós-graduação existentes na UFMT (3 Mestrados e 1 Doutorado).

Por tratarem-se de classes farmacêuticas de grande consumo mundial (antiinflamatórios e antiúlcera), certamente o desenvolvimento de um produto destes contribuiria para a redução da importação e dos gastos estaduais com medicamentos destas classes.

Objetivos

1. Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do extrato etanólico de *Echinodorus macrophyllus* Michell

Etapas restantes:

Ensaio de toxicidade em cães – R\$ 100.000,00

Ensaio clínico (fases 1, 2 e 3)– R\$ 5.000.000,00

Desenvolvimento da forma farmacêutica: R\$ 200.000,00

Desenvolvimento agrônomo: R\$ 1.000.000,00

Total: R\$ 6.300.000,00

2. Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de *Simaba ferruginea* St.Hil.

Etapas restantes:

Ensaio de toxicidade em cães – R\$ 100.000,00

Ensaio clínico (fases 1, 2 e 3) – R\$ 5.000.000,00

Desenvolvimento da forma farmacêutica: R\$ 200.000,00

Desenvolvimento agrônomo: R\$ 1.000.000,00

Total: R\$ 6.300.000,00

3. Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a Partir de *Acosmim dasycarpum* Yakovlev (Perobinha do Campo).

Necessita-se ainda complementar a fase pré-clínica e os estudos químicos.

Capital: R\$ 200.000,00 (HPLC preparativo);

Custeio: R\$ 50.000,00 (reagentes, solventes, drogas)

Total: 250.000,00

Equipe Proponente:

Projetos 1 e 2:

Prof. Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins (Coordenador - UFMT)

Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho (Fitoquímica – Univali)

Prof. Dr. Lousã Lopes (Desenvolvimento químico-farmacêutico - UFMT)

Téc. Lab. Libério Amorim Neto (Coletador de Material Botânico) – UFMT)

Ms. Joaquim Corsino da Silva Lima (Farmacologia – UFMT)

Ms. Harry Lorenzi (Botânico - Instituto Plantarum – SP)

Projeto 3:

Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Jr (Química - UFMT)

Prof. Dr. Evandro Luís Dall'Oglio (Química – UFMT)

Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira (Química – UFSCar)

Prof. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima (Microbiologia – UFPb)

Prof. MS. Uir Santana de Figueiredo (Química – UFMT)

Estágio da pesquisa –

Fase média (projetos 1 e 2); Fase inicial média (projeto 3).

Resultados e Impactos Esperados –

Formação de recursos humanos nos níveis de iniciação científica, mestrado e doutorado, implantação de unidades de toxicologia pré-clínica, de unidades de farmacologia clínica e de preparo de extratos padronizados. Em média, serão necessários pelo menos mais 5 anos para o desenvolvimento dos produtos finais.

Atendimento aos critérios aprovados no CPP –

Todos

Tema: Etnobotânica

Projeto: O USO ATUAL E POTENCIAL DE ESPÉCIES DA FLORA MATO-GROSSENSE: UM ESTUDO COM COMUNIDADES PANTANEIRAS (prioridade 1)

Objetivos e Justificativa:

Revelar as espécies componentes da flora regional mato-grossense, em áreas previamente selecionadas especificamente no pantanal, priorizando conhecer o seu uso atual e potencial, enfatizando a relação homem-planta. - Verificar as formas de uso de espécies vegetais junto às comunidades/populações humanas estabelecidas em áreas do pantanal de Santo Antônio de Leverger e Barão de Melgaço, com vistas a definir as plantas que possam ser indicadas para posteriores estudos, especialmente químicos, farmacológicos e agrônômicos. Os objetivos propostos para este projeto justificam-se frente à política de agregação de valores aos produtos naturais do pantanal, área que a Universidade hoje vem desenvolvendo em diferentes setores. A pesquisa possibilita o desenvolvimento de produtos comerciais, a partir do engajamento posterior das equipes da Química/UFMT, coordenada pelo Prof. Dr. Paulo Teixeira de Souza Junior, da Farmacologia/UFMT, coordenada pelo Prof. Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins e da Agronomia/cultivo, coordenada pela Profa. Dra. Maria de Fátima Barbosa Coelho. Com o aprofundamento dos estudos e pesquisas, estas equipes poderão detectar ou não

elementos que contribuam para a obtenção de produtos finais com fins comerciais. Possibilita, ainda, promover indicadores para políticas públicas para o setor (conservação e preservação, empoderamento de comunidades, proteção ao conhecimento tradicional, por exemplo), a partir do universo pesquisado e seus resultados.

Orçamento:

R\$ 32.000,00 (custeio)

EQUIPE:

- Prof. Dr. Germano Guarim Neto – UFMT (guarim@cpd.ufmt.br)- Coordenador. Coleta e análise de dados. Preparação de manuscritos.
- Profa. Dra. Vera Lúcia M. Guarim – UFMT - Coleta e análise de dados. Preparação de manuscritos.
- Profa. Dra. Maria Corette Pasa – UFMT - Coleta e análise de dados. Preparação de manuscritos.
- Prof. Dr. Albano Geraldo Emílio Magrin – UFMT - Coleta e análise de dados. Preparação de manuscritos.
- Hélio Ferreira (Técnico) – UFMT – Auxílio nos trabalhos de campo e de laboratório.
- Libério Amorim Neto (Técnico) – UFMT - Auxílio nos trabalhos de campo e de laboratório.
- Um motorista – UFMT – Condução da equipe nos trabalhos de campo.
- Alunos de Graduação. – UFMT - Auxílio nos trabalhos de campo e de laboratório. Preparação de manuscritos.
- Alunos de Mestrado. – UFMT - Auxílio nos trabalhos de campo e de laboratório. Preparação de manuscritos.

RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS:

Duas monografias de Conclusão de Curso de Graduação. - Duas Dissertações de Mestrado (resultado provável). Relatório Técnico. - Check list das plantas potenciais das comunidades estudadas. - Indicação das plantas às outras equipes. - Apresentação de 04 comunicações em eventos. - Apresentação do resultado final para as comunidades.

Os impactos esperados recaem sobre a viabilidade de propiciar meios para que pesquisas finais com as espécies indicadas sejam realizadas, tendo como base o etnoconhecimento que emana das comunidades, neste caso, revelando a potencialidades da flora do pantanal em Santo Antônio de Leverger e Barão de Melgaço.

ATENDIMENTO AOS CRITÉRIOS APROVADOS NO CPP:

Origem vegetal: o material objeto do estudo é de origem vegetal e de ocorrência no Pantanal nos municípios de Santo Antônio de Leverger e Barão de Melgaço; tem origem no pantanal; tem objetivos e resultados previstos a subsidiar políticas públicas para o setor; possibilita revelar produtos com potencial comercial e impacto sócio-econômico-ambiental; envolve inicialmente dois grupos de pesquisa com possibilidade de se ampliar quando das indicações das plantas às outras equipes salientadas no Projeto; prioriza pesquisas para se obter a médio prazo um produto com potencial comercial

Paulo Teixeira de Sousa Jr
Pró-Reitor de Pesquisa – UFMT

CARTA-PROPOSTA – UNIDERP

1. **Título:** Estudo da Composição Química e Propriedades Farmacológicas de *Solanum variable* (SOLANACEAE)

2 – **COORD.:** Rosemary Matias Coelho

3. **COLAB.:** Cristiana Santos Macedo

4 – COLABORADORES	TIT.	Função	INSTITUIÇÃO
*Rosemary M. Coelho	M.Sc.	fracionamento, isolamento e identificação de princípios ativos	UNIDERP
*Ricardo Mathias Orlando	M.Sc.	HPLC	UNIDERP
Maria Helena Saragiotto	Dra.	Identificação de princípios ativos	UEM
Eric de Souza Gil	Dr.	Controle de Qualidade	UNIDERP
Cristiana Santos de Macedo	Dra	Microbiologia/Parasitologia	UNIDERP
Alejandro M. Katzin	Dr.	Parasitologia	USP
* # Doroty M. Dourado	M.Sc.	Histologia	UNIDERP
# Gilberto Facco	M.Sc.	Histologia	UNIDERP
Mônica C. Toffoli Kadri	Dra.	Farmacologia	UNIDERP
Sdephen Hyslop	Dr.	Farmacologia	UNICAMP
# Sílvio Favero	Dr.	Entomologia	UNIDERP
# Ademir M. de Oliveira	Dr.	Germinação e cultivo	UNIDERP
# Graziella Brum	Dr.	Germinação e cultivo	UNIDERP

* Doutorandos

Projeto em desenvolvimento com custeio da

UNIDERP/FMB/FUNDECT

5. APRESENTAÇÃO:

O grupo de pesquisa em Produtos Naturais da UNIDERP vem desenvolvendo e constatando a eficácia de plantas ainda não difundidas na literatura na produção de fitofármacos. Atualmente, temos duas pomadas sendo desenvolvidas, com comprovada ação cicatrizante, principalmente em ratos diabéticos. O Grupo de Pesquisa optou pelo uso de extratos de plantas na produção farmacêutica, uma vez que estes novos produtos poderão atuar com melhores índices terapêuticos e com maior simplicidade de manipulação do que aqueles já existentes no mercado. Outrossim, esses estudos podem

dar suporte à busca por novas plantas potencialmente ativas do Pantanal. Paralelamente, para sustentação destas pesquisas, o Grupo Interdisciplinar vem realizando trabalhos quanto à germinação de sementes e mudas, cultivo de espécies do Pantanal e Cerrado, bem como de espécies exóticas, visando o aumento de produção x marcador químico. Neste âmbito, as espécies produzidas no Campus, assim como as espécies coletadas no ambiente, são utilizadas em ensaios biológicos, para a avaliação das atividades hipoglicemiante, antimicrobiana, antioxidante, cicatrizante, anti-inflamatória, inseticida, bem como os efeitos tóxicos em modelos experimentais, utilizando para isso os extratos brutos.

Dentre as diversas espécies estudadas pelo Grupo de Pesquisa da UNIDERP com potencial para a produção de um fitoterápico, destaca-se a *Solanum variable*, devido à sua comprovada ação hipoglicemiante em modelos experimentais. Esta espécie cosmopolita é comum na região do Pantanal, principalmente nos capões, bem como no Cerrado (POTT E REZENDE, 2002).

A escolha dessa planta teve como base os seguintes aspectos: processo de germinação, cultivo, determinação dos alcalóides totais e correlação dos mesmos com a produção de biomassa consolidados na UNIDERP, e principalmente por sua ação hipoglicemiante. Dentro dessa óptica esta espécie destaca-se, uma vez que o diabetes é um distúrbio crônico caracterizado por comprometimento do metabolismo da glicose e de outras substâncias produtoras de energia, que tem sua incidência aumentada a cada ano, devido à epidemia de obesidade que assola o mundo. Portanto, os órgãos públicos de saúde, bem como os órgãos de fomento, vêm subsidiando projetos relacionados a esse tema, uma vez que o tratamento e os medicamentos recomendados oneram principalmente o sistema de saúde pública brasileiro.

Desta forma, a presente proposta tem como objetivo extrair, isolar e identificar os componentes químicos presentes em exemplares de *Solanum variable* obtidos tanto em ambiente natural como cultivados. Paralelamente, serão avaliados a ação hipoglicemiante em ratos induzidos a diabete com aloxana utilizando extratos desta espécie em diferentes concentrações, bem como acompanhar a ação toxicológica em ratos normais. Além disso, serão avaliadas as atividades antimicrobiana e antiparasitária.

Finalmente, pretende-se desenvolver forma(s) farmacêutica(s) a partir de extratos da *S. variable*, e realizar o controle de qualidade do produto, assim como planejar e viabilizar uma planta piloto para o cultivo da planta e produção deste produto no Campus da UNIDERP.

Cabe salientar que além da *S. variable*, a UNIDERP vem estudando outras espécies consideradas alvos para a produção de fitofármacos, e para isto o grupo de pesquisa em Produtos Naturais da UNIDERP conta com apoio da Fundação Manoel de Barros (FMB), USP (São Paulo), UNICAMP-SP e UEM-PR.

6. ORÇAMENTO

Capital	R\$ 50.000,00
Custeio	R\$ 30.000,00
Total do Projeto	R\$ 80.000,00

CARTA-PROPOSTA – UCDB

Título: EXTRATOS E SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS DE ESPÉCIES DO PANTANAL VISANDO O DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS COM APLICAÇÃO FARMACÊUTICA E AGRÍCOLA.

1 . Introdução:

Seguindo a tendência mundial de melhorar o nível de saúde da comunidade, reduzir agressões ao meio ambiente, controlar pragas e doenças de plantas cultivadas e tornar mais seguros os alimentos consumidos, busca-se nas plantas e seus extratos substâncias capazes de exercer essas atividades de forma seletiva e eficiente, para que não interfira com o equilíbrio natural do ecossistema.

Baseados nessa premissa e atendendo à solicitação do Centro de Pesquisa do Pantanal (em sua chamada para propostas de projetos institucionais para a implantação da sua terceira Rede) foram selecionadas para estudos mais aprofundados espécies vegetais do eco-sistema do Pantanal que levem a produtos de aplicação nas áreas farmacêutica e agrícola. Várias espécies vegetais do bioma Pantanal, estão sendo estudadas por nossos grupos de pesquisa e mostraram resultados promissores, com potencial atividade biológica. Porém as espécies selecionadas são: *Trichilia pallida*, *Manihot esculenta*, *Stryphnodendron obovatum*, *Dipterix alata*, *Vernonia braziliana* e *Dyosporus hispida*, já que para estas existem testes de eficiência aproximando-se de resultados passíveis de comercialização.

A equipe envolvida reúne profissionais de áreas complementares, com experiência em todas as etapas necessárias para o desenvolvimento das propostas encaminhadas, assim como para trabalhar em redes de cooperação.

Dessa forma, essa proposta atende aos critérios aprovados no CPP ao selecionar espécies vegetais com objetivos fitoterápico e agrícola, de ocorrência no Pantanal, com produtos com potencial comercial e impacto econômico-social-ambiental envolvendo 5 grupos de pesquisadores da Instituição já estruturados e produtivos.

2 . Objetivos:

O objetivo geral da proposta é de coordenar áreas afins de pesquisa para avaliar os extratos e substâncias isoladas ou sintetizadas, visando a sua utilização em escala comercial. Os objetivos específicos são:

- Extrair e fracionar os constituintes químicos do metabolismo primário e secundário;
- Realizar bioensaios guiados (testes de atividade antioxidante, antibacteriana, antiinflamatória, antitumoral, antifúngica, larvicida, atividade protéica, citotoxicidade, indução de fertilidade e avaliação hormonal) para selecionar extratos ativos e posteriormente substâncias químicas bioativas;
- Testar a eficiência no controle sobre insetos-pragas de agricultura e de ectoparasitas de animais domésticos e sua toxicidade.
- Sintetizar em escala laboratorial substâncias úteis.
- Desenvolver novas formulações farmacêuticas, veterinárias e agrícolas, com a adequada proteção de produtos e processos que vierem a ser obtidos, por meio de patente.

3. Fases da Pesquisa:

Atividades	1º ano						2º ano					
	1º Semestre			2º Semestre			1º Semestre			2º Semestre		
Nova Extração de metabólitos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fracionamento dos extratos					+	+	+	+	+	+	+	+
Atividade Biológica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Elucidação e modificação estrutural	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Desenvolvimento de formulações						+	+	+	+	+	+	+
Avaliação, publicação em periódicos, solicitação de registro e patente							+	+	+	+	+	+

4. Orçamento:

Bens de capital: R\$ 250.000,00

Bens de custeio: R\$ 150.000,00

5 . Equipe proponente da UCDB

Prof^a. Dr^a. Rachel Oliveira Castilho – COORDENAÇÃO

Prof^a. MSc. Maria Carolina Silva Marques e Prof^a. MSc Karla Porto - Extração de metabólitos secundários, fracionamento e testes de citotoxicidade, antioxidante, larvicida, avaliação hormonal e indução de fertilidade.

Prof^a. Dr^a. Norlene Regina Bueno - Extração e purificação de proteínas e testes de atividade proteica

Prof^{as}. Dr^a Susana Elisa Moreno e MSc. Cássia Rejane Brito Leal – Atividade antiinflamatória

Prof^a. MSc. Alda Teixeira Ferreira – Testes de atividade antibacteriana

Prof^a. MSc. Ana Lúcia Alves de Arruda - Testes de atividade antifúngica

Profas. Dr^{as} Marney Pascoli Cereda e Simone Favaro – Tecnologia de alimentos, carboidratos e microbiologia

Prof^a. Dr^a Antonia Railda Roel Agronomia - testes de atividades inseticida

Prof^a. Dr^a Rozanna Marques Muzzi – síntese e modificação estrutural de substâncias bioativas

Prof^o Dr Eduardo José Arruda e Prof^o Dr. Lincon Oliviera – Extração, isolamento, caracterização físico-química de extratos e bioativos, produção de matrizes poliméricas, formulações líquidas, sólidas e pós-molháveis.

Profs. MSc. Inaiara Carvalho e Tânia Regina da Silva - Desenvolvimento de formulações.

Profs MSc. Amaury Antônio de Castro Junior, Mauro Conti Pereira, Priscila Silva Martins e

Prof. Dr. Hemerson Pistori - desenvolvimento de ferramentas computacionais de suporte à realização de testes biológicos.

Equipe parceira

Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan (UFRJ) – Caracterização química

Prof^a. Dr^a. Maria Luiza Vilela Oliva (UNIFESP) – Sequenciamento de proteínas

Prof^{as}. Dr^{as} Maria de Fátima Cepa Matos (UFMS) e Maria Cristina Y de Mattos (UNESP) – Testes de atividade antitumoral

Prof. Dr. Carlos M. Ribeiro (UFF) e Profa. Dra. Neusa M. M. Somera – modificação estrutural

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana (UFAL) – Caracterização química e testes larvicidas

Dr. Anildo Pott e Dra Vali Joana Pott – Identificação botânica

Dra Marisa Massumi Beppu (UNICAMP) - Análises físico-química de extratos

Dr. José Antonio Marques Pereira (UFV) – Caracterização físico-química de extratos e isolados.

6 . Estágio da Pesquisa:

As espécies acima elencadas já foram estudadas anteriormente por nosso grupo de pesquisa, sendo escolhidas por apresentarem resultados promissores quanto às suas atividades biológicas. Estamos, atualmente nas etapas médio e final do estudo geral, visando a obtenção de produtos de aplicação farmacêutica ou agrícola.

7 . Resultados e impactos esperados:

Espera-se com o presente projeto resultados e impactos significativos para utilização de recursos naturais da região do Pantanal e desenvolvimento de novos produtos com contribuições relevantes à ciência e tecnologia.

Embora o foco central dos estudos esteja no Pantanal, os conhecimentos e produtos gerados serão de interesse não somente regional, mas sim Nacional e Mundial, tendo em vista que as estratégias poderão ser aplicadas a outros biomas.

Para a região Centro-Oeste, em particular, a consolidação de uma rede de pesquisa em produção de novos medicamentos e produtos bioativo é de grande relevância, pois além de fomentar o desenvolvimento científico dos pesquisadores locais também permitirá uma nova linha de desenvolvimento econômico.

CARTA-PROPOSTA 1 – UEMS

Introdução

As plantas consideradas como bioativas representam um fator de grande importância para a manutenção das condições da saúde humana. Considerando-se o grande potencial da flora do Pantanal, a avaliação química e biológica de espécies de plantas superiores desta região é de grande importância. Entretanto, esta é restrita a um pequeno número pesquisadores qualificados, que estão realizando esforços na busca de novas substâncias que possam ser utilizadas como medicamentos fitoterápicos, fármacos e/ou agricultura.

A proposta de pesquisa em questão tem como objetivo, numa primeira etapa, avaliar algumas espécies tidas como medicinais. Estas espécies vegetais serão analisadas em seus extratos brutos e/ou frações, quanto às atividades: tóxica, antioxidante, fungicida, alelopática e inseticida. Posteriormente, serão escolhidas espécies, daquelas que apresentarem resultados mais promissores quanto às propriedades biológicas, sendo então realizados os estudos fitoquímicos, por meio de técnicas cromatográficas e de elucidação estrutural via técnicas espectroscópicas. Intensificando os estudos com uma espécie vegetal do pantanal a ser empregada nos tratamentos de vitiligo e psoríase. Para alcançar este produto outros grupos deverão ser inseridos, principalmente nos testes de farmacológicos e assim caracterizando assim o projeto em epígrafe como interinstitucional e multidisciplinar, além proporcionar a formação e qualificação de recursos humanos no desenvolvimento dos trabalhos.

Objetivos e justificativa

Considerando que não mais do que 10% das espécies vegetais da flora brasileira tenham sido investigadas em busca de seus princípios ativos e que um percentual bem menor tenha sido avaliado quanto ao potencial biológico, o estudo da composição química com fins terapêuticos poderá constituir em uma perspectiva de moléculas bioativas. Por outro lado, o desafio de estudar detalhadamente uma espécie vegetal, determinando de modo exato e racional as estruturas de seus constituintes, ou de novas moléculas, poderão não só constituir em estratégia de programas de preservação da

biodiversidade e, ao mesmo tempo, de se obter matéria prima em quantidade para obtenção de substâncias dela derivadas. Neste sentido, a utilização de espécies vegetais ou das substâncias isoladas com fins terapêuticos, tem se mostrado como uma fonte de recursos que carecem de uma melhor exploração. Sendo assim pretende-se avaliar espécies vegetais do Pantanal com propriedades etnofarmacológicas, com os objetivos de:

- I. Realizar nestes extratos testes de atividades biológicas e avaliação do perfil cromatográfico dos constituintes químicos existentes nos vegetais ,visando a obtenção da extratoteca e selecionando os mais viáveis e potencialmente bioativos para realização isolamentos dos metabólitos presentes.
- II. Obter um fitomedicamento a ser empregado no tratamento de psoríase e vitiligo com espécie do pantanal
- III. Avaliação da atividade inseticida de extratos e biomoléculas associadas à cultura de milho (*Spodoptera frugiperda*), soja (*Anticarsia gemmatalis*) e pragas associadas à hortaliças, visando à redução da utilização de produtos nocivos à saúde nessas culturas.

Orçamento

Etapas	Material	Estimativa de Orçamento
I. Perfil cromatográfico / Identificação dos metabólitos / Metodologia de análise do produto	HPLC-MS	R\$ 450.000,00
	MS/MS (para acoplar em CG já adquirido)	R\$ 200.000,00
	Solventes	R\$ 60.000,00
	Vidrarias em geral	R\$ 50.000,00
	Acessórios para cromatografia	R\$ 100.000,00
	Serviços terceirizados	R\$ 20.000,00
	Diárias e combustível para coletas	R\$ 20.000,00
II. Avaliação biológica	Equipamentos básicos	R\$ 50.000,00
	Testes biológicos preliminares	R\$ 10.000,00
III. Avaliação inseticida	Aquisição de equipamentos para realização dos testes	R\$ 24.000,00
TOTAL		R\$ 984.000,00

Equipe Proponente

Dr. Alex Haroldo Jeller (UEMS – coordenação – Fitoquímica e testes de atividade biológica); Dra. Claudia Andréa Lima Cardoso (UEMS – Análise de produtos naturais,

formulação de medicamentos testes de atividade biológica); Dr. Sandro Minguzzi (UEMS – Fitoquímica); Msc. Andersson Barison (UEMS - Identificação estrutural de substâncias biológicas); Msc. Ana Francisca Gomes da Silva (UEMS – Fitoquímica); MSc. Luzinátia Ramos Soares (UEMS – Fitoquímica); MSc. Deizeluci de Fátima Pereira Zanella (UEMS – Fitoquímica); Dr. Etenaldo Felipe Santiago (UEMS – Botânica e cultivo de espécies vegetais); Dr. Sérgio Roberto Rodrigues (UEMS); Dr. Alfredo Raul Abot (UEMS); Dr. Walmir da Silva Garcez (UFMS); Dra. Fernanda Rodrigues Garcez (UFMS); Gilmar Vieira Coutinho (UEMS - IC); Hugo Márcio Leandro (UEMS - IC).

Estágio da pesquisa

OBJETIVO 1: Os trabalhos a serem desenvolvidos encontram-se em desenvolvimento, tendo algumas etapas realizadas, tais como: Identificação de algumas espécies vegetais; avaliação do perfil cromatográfico e identificação de alguns dos constituintes químicos presentes em algumas destas espécies.

OBJETIVO 2: Os trabalhos a serem desenvolvidos encontram-se em desenvolvimento, tendo algumas etapas realizadas, tais como: Identificação da espécie vegetal; avaliação do perfil cromatográfico, identificação de alguns dos constituintes químicos presentes e testes *in vivo* iniciais.

OBJETIVO 3: As pesquisas podem ser consideradas em fase inicial de desenvolvimento.

Resultados e Impactos Esperados

Pretende-se ao longo do estudo a ser desenvolvido, durante um período mínimo de 5 anos, obter um fitomedicamento a ser empregado em doenças dermatológicas e obter um extrato a ser disponibilizado para testes de atividades biológicas diversas, inseticida e farmacológicas.

Atendimento aos critérios aprovados no CPP

Os critérios propostos pelo CPP foram atendidos em sua totalidade, os quais foram de origem vegetal, origem pantanal, aderência às políticas públicas, produto com potencial comercial, número maior de especialidades, priorização das pesquisas próximas dos produtos.

CARTA-PROPOSTA 2 – UEMS AQUIDAUANA

CURSO DE AGRONOMIA

“EFEITO DE EXTRATOS DE PLANTAS DO PANTANAL NO CONTROLE DE PRAGAS DE CULTURAS”

1. Introdução

Atualmente para o controle de pragas das culturas, vários produtos químicos são utilizados, o que tem gerado grandes problemas para a saúde humana. Em primeiro plano aparecem os produtores rurais que sofrem diretamente ação dos produtos químicos, pois nas atividades diárias relacionadas às produções vegetais, estes utilizam defensivos, muitos dos quais acabam sendo inalados ou devido ao contato são absorvidos pelo tecido humano, o que afeta diretamente a saúde do produtor rural. Em segundo plano, a população que consome tais produtos vegetais podem estar consumindo produtos com resíduos de defensivos químicos, pois nem sempre os prazos de carência dos produtos são respeitados para a sua devida comercialização.

O estudo de plantas com efeito inseticida tem grande interesse, pois normalmente a elaboração de pós ou extratos vegetais diluídos em água, quando em contato com as pragas podem exercer grande efeito de controle sobre estas. Recentemente, esse fato tem sido constatado para *Azadirachta indica* (NIM) (Meliaceae), sendo encontrado já no comércio soluções dessa planta, as quais são recomendadas para o controle de alguns grupos de pragas.

2. Antecedentes e Justificativa

Através da FUNDECT foi aprovado o recurso de R\$ 10.110,00 (dez mil cento e dez reais) para desenvolvimento do projeto intitulado “Efeito de extratos vegetais no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae)”. Esse projeto é desenvolvido em parceria com o Departamento de Química da UFMS de Campo Grande, o qual tem identificado e disponibilizado os extratos com os princípios ativos das plantas. Desta forma, os produtos naturais e fitoquímicos que são identificados pelo Departamento de Química são testados nos experimentos com Entomologia Agrícola.

Informações referentes a esse projeto estão disponíveis na página da FUNDECT (www.fundect.ms.gov.br).

Sobre essa linha de pesquisa que estamos desenvolvendo atividades, é possível a ampliação da mesma, onde poderia ser mantida a linha de trabalhos sobre o tema “Efeito de extratos de plantas do pantanal no controle de pragas de culturas”. Prioritariamente estariam sendo desenvolvidas atividades com pragas associadas à cultura do milho (*Spodoptera frugiperda*), soja (*Anticarsia gemmatalis*) e pragas associadas à hortaliças, tendo em vista a necessidade de redução da utilização de produtos químicos nessas culturas.

3. Orçamento

Seria necessário à aquisição dos seguintes equipamentos para condução das atividades de efeito de plantas inseticidas: 2 câmaras climatizadas com controle de fotoperíodo e termoperíodo (no valor total de R\$ 8.000,00), uma geladeira (no valor de R\$ 1.500,00), uma estufa de secagem (no valor de R\$ 3.000,00), seriam necessários 1.000 tubos de ensaio (no valor de R\$ 500,00), 20 suportes de metal para os tubos de ensaio (R\$140,00), 4 kg de algodão para vedar os tubos de ensaio (R\$ 200,00), um microcomputador com impressora (no valor de R\$ 3.500,00), destilador de água (R\$ 1.500,00) e 2 condicionadores de ar de 10.000 BTUs (no valor de R\$ 5.000,00).

São solicitados, portanto, o recurso de R\$ 23.340,00.

4. Equipe Proponente

Prof. Dr. Sérgio Roberto Rodrigues (UEMS); Prof. Dr. Alfredo Raul Abot (UEMS); Prof. Dr. Walmir da Silva Garcez (UFMS); Prof. Dra. Fernanda Rodrigues Garcez (UFMS); Prof. Deizeluci de Fátima Zanella (UEMS); Gilmar Vieira Coutinho (aluno UEMS); Hugo Márcio Leandro (aluno UEMS)

5. Estágio da Pesquisa

A pesquisa pode ser considerada em fase inicial de desenvolvimento.

6. Resultados e Impactos esperados.

O estudo e uso de plantas inseticidas pode promover grandes benefícios a comunidade agrícola, principalmente aos produtores rurais que teriam oportunidade de trabalhar com extratos de plantas selecionadas, que nada mais são do que produtos orgânicos os quais não possuem toxicidade humana. Com o desenvolvimento de estudos dessa natureza será possível desenvolver tecnologias que visem ao máximo a diminuição de aplicação de defensivos agrícolas, bem como a diminuição dos custos totais durante o ciclo de condução das culturas, refletindo diretamente em aumento de renda dos produtores, o que implica na melhoria da qualidade de vida de boa parte da população dos produtores do Estado de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso.

ANEXO 3

**OFÍCIOS ENCAMINHADOS AOS
PRESIDENTES DAS FAPs E
E-MAIL ENVIADO AO MCT**

Of. nº. 172/ CPP/2005

Cuiabá-MT, 28 de junho de 2005

Ilmo. Senhor

Dr. Antonio Carlos Camacho

MD. Presidente FAPEMAT

Cuiabá – MT

Prezado Senhor,

O CPP – Centro de Pesquisas do Pantanal, Associação Civil sem fins Lucrativos, inscrito no CNPJ. 05.220.369/0001-23, qualificado como Organização da Sociedade Civil de Interesse Público (OSCIP), surgiu de um processo de consulta da sociedade civil e da comunidade científica através de uma ação conjunta dos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, que tem como principal objetivo a produção de conhecimentos e a formação de recursos humanos para subsidiar as políticas públicas voltadas ao uso sustentável do Pantanal, tendo na participação comunitária um dos seus pilares da atuação.

O projeto “Consolidação das Redes de Pesquisa Sobre os Ecossistemas do Pantanal”, em execução através do Termo de Parceria firmado em julho de 2004 com o MCT – Ministério da Ciência e Tecnologia, visa produzir informações científicas que possam embasar políticas públicas que garantirão a sustentabilidade das duas cadeias produtivas mais tradicionais da região, a pesca e a pecuária.

Iniciamos em 2005 com apoio também do MCT, os trabalhos de formatação de uma terceira rede de pesquisas (Rede Pantaneira de Bioprospecção), voltada para a agregação de valor e o uso sustentável dos produtos naturais da região do Pantanal. Nesse sentido, e reportando-nos à reunião realizada na presente data entre este Secretário Executivo e os Presidentes das FAP’s de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, vimos, por meio deste, solicitar de V.Sa. as providências cabíveis para a viabilização de parceria CPP-FAP, no valor de R\$ 100.000,00 (cem mil reais anuais), por três anos, para que possamos viabilizar os projetos de pesquisa da terceira rede. Ainda conforme o acordado na referida reunião, informamos que estaremos no MCT, no dia 30 do corrente, onde negociaremos uma contra-partida daquele órgão.

Na expectativa de termos o nosso pleito atendido, colocamo-nos ao inteiro dispor para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários.

Atenciosamente,

Centro de Pesquisa do Pantanal
Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Jr.

Of. nº. 173/ CPP/2005

Cuiabá-MT, 28 de junho de 2005

Imo. Senhor

Prof. Dr. Fábio Edir dos Santos Costa

MD. Presidente FUNDECT

Campo Grande – MS

Prezado Senhor,

O CPP – Centro de Pesquisas do Pantanal, Associação Civil sem fins Lucrativos, inscrito no CNPJ. 05.220.369/0001-23, qualificado como Organização da Sociedade Civil de Interesse Público (OSCIP), surgiu de um processo de consulta da sociedade civil e da comunidade científica através de uma ação conjunta dos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, que tem como principal objetivo a produção de conhecimentos e a formação de recursos humanos para subsidiar as políticas públicas voltadas ao uso sustentável do Pantanal, tendo na participação comunitária um dos seus pilares da atuação.

O projeto “Consolidação das Redes de Pesquisa Sobre os Ecossistemas do Pantanal”, em execução através do Termo de Parceria firmado em julho de 2004 com o MCT – Ministério da Ciência e Tecnologia, visa produzir informações científicas que possam embasar políticas públicas que garantirão a sustentabilidade das duas cadeias produtivas mais tradicionais da região, a pesca e a pecuária.

Iniciamos em 2005 com apoio também do MCT, os trabalhos de formatação de uma terceira rede de pesquisas (Rede Pantaneira de Bioprospecção), voltada para a agregação de valor e o uso sustentável dos produtos naturais da região do Pantanal. Nesse sentido, e reportando-nos à reunião realizada na presente data entre este Secretário Executivo e os Presidentes das FAP’s de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, vimos, por meio deste, solicitar de V.Sa. as providências cabíveis para a viabilização de parceria CPP-FAP, no valor de R\$ 100.000,00 (cem mil reais anuais), por três anos, para que possamos viabilizar os projetos de pesquisa da terceira rede. Ainda conforme o acordado na referida reunião, informamos que estaremos no MCT, no dia 30 do corrente, onde negociaremos uma contra-partida daquele órgão.

Na expectativa de termos o nosso pleito atendido, colocamo-nos ao inteiro dispor para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários.

Atenciosamente,

Centro de Pesquisa do Pantanal
Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Jr.

E- MAIL ENVIADO AO MCT

Cuiabá, 11 de julho de 2005

Senhor Coordenador,

Reportando-me à reunião ocorrida no dia 30 de junho, neste MCT, onde estiveram presentes este Secretário Executivo, Vossa Senhoria e o Dr. Jorge Humberto Nicola (Secretário Substituto da Secretaria de Políticas e Programas de Pesquisa e Desenvolvimento), e, considerando que:

1. O CPP já realizou dois workshops com o intuito de organizar a terceira rede de pesquisa, prevista no Termo de Parceria assinado com este MCT;
2. Por deliberação dos presentes aos eventos, decidiu-se pela criação da Rede Pantaneira de Bioprospecção, que terá como primeira ação o desenvolvimento de pesquisas visando o desenvolvimento de dois fitoterápicos e um bioinseticida;
3. Os presidentes da FUNDECT (Mato Grosso do Sul) e FAPEMAT (Mato Grosso), em reunião realizada em Cuiabá, no dia 28 de junho, se dispuseram a contribuir, para a execução das ações previstas acima, com a quantia de R\$100.000,00 anuais, durante três anos, totalizando R\$600.000,00 (seiscentos mil reais) até o ano de 2007, conforme ofício entregue ao Dr. Nicola na reunião supra-citada;
4. Através de emendas parlamentares (bancada federal de MS), serão alocados R\$350.000,00 (trezentos e cinquenta mil reais) adicionais, via FUNDECT, ainda exercício de 2005;
5. Ainda na reunião do dia 28 de julho (Cuiabá), os presidentes das duas FAPs solicitaram a este Secretário Executivo que buscassem o apoio do MCT, na proporção mínima de 1:1, ou seja, 950.000,00 (novecentos e cinquenta mil reais), até 2007;

Face ao exposto acima, vimos, por meio deste, solicitar de V.Sa. o apoio, no sentido de verificar as possibilidades orçamentárias, por parte do MCT, para o atendimento ao requisitado.

Certos de podermos contar com mais este apoio por parte do MCT, subscrevemo-nos,

Atenciosamente,

Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Jr.
Secretário Executivo

ANEXO 4

**PROPOSTA DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS
DO INSTITUTO PARA O
DESENVOLVIMENTO DA GESTÃO PÚBLICA
E PROGRAMAÇÃO DO WORKSHOP**

PROPOSTA DE ESTRUTURAÇÃO DA REDE DE BIOPROSPECÇÃO DO PANTANAL -

OBJETIVO: Realizar uma discussão sobre os elementos estruturantes da Rede de Bioprospecção do Pantanal, visando a agregação de valor a produtos naturais do Pantanal.

PRODUTOS ESPERADOS:

- a) Escolha priorizada das propostas que integrarão o plano de ações integradas da rede;
- b) Elementos para a elaboração do Plano de Ações Integradas da Rede de Bioprospecção do Pantanal produzidos.
- c) Relação da equipe responsável por cada resultado com seus dados para contato;

1. **Objetivo Geral do Workshop:** Estruturação da Rede de Bioprospecção Vegetal do Pantanal.
2. **Objetivos Específicos:** i) discussão e validação da cadeia de valor da 3ª Rede (BIOPROSPECÇÃO VEGETAL DO PANTANAL); ii) estruturação do Plano de Ações para a Rede. iii) priorização das propostas apresentadas pelos partícipes, segundo os objetivos e resultados pretendidos e critérios estabelecidos; iv) definição de um interlocutor para Rede.

DINÂMICA DO TRABALHO

1º Dia – 27/05/05 (MANHÃ)

- Apresentação dos participantes e expectativa do encontro (30 minutos).
- Apresentação deste Programa de Trabalho (10 minutos)
- Apresentação da metodologia de identificação da Cadeia de Valor da Rede (20 minutos)
- Estruturação da Cadeia de Valor da 3ª Rede (2 horas)

- Que insumos são necessários e quem os fornece

- Que ações são necessárias e quem as executa (colaboradores, parceiros externos etc)

- Que produtos se espera gerar a partir do trabalho da Rede e quem são os beneficiários
- Que impactos se pretende gerar e quem sofre as conseqüências
- Em suma, a estruturação da Cadeia de Valor da 3ª Rede irá permitir identificar quem faz o quê, para quem, para quê, como faz e com que recursos/insumos faz.

1º Dia – 27/05/05 (TARDE)

Definição dos macro-objetivos da Rede (1 hora)

A clareza do funcionamento pretendido pela Rede permitirá identificar com mais precisão o seu Plano de Ações. Este plano deverá ser composto do seguinte conjunto de informações:

Macro-objetivos	Resultados	Indicadores	Metas	Prazos	Custos	Instituições participantes e responsáveis

Explicação dos procedimentos de priorização (critérios definidos no workshop Chapada dos Guimarães – MT, 22 e 23 de março de 2005), com a apresentação dos pesos estabelecidos para cada critério (5 minutos)

Breve apresentação das propostas apresentadas (10 minutos cada)

Priorização dos projetos constantes nas propostas, levando-se em conta os macro-objetivos da rede e os critérios definidos (1 hora e meia)

2º Dia – 28/05/05 (MANHÃ)

Desenvolvendo o Plano de Ação da 3ª Rede

- Procurar responder às seguintes perguntas:

Quais devem ser os resultados, indicadores e metas da 3ª Rede? E de que forma a instituição da qual eu faço parte pode contribuir?

Quais seriam os prazos e custos para o alcance de cada resultado?

Que instituições poderiam contribuir para o alcance de cada resultado?

- Obs: as reflexões deverão ser realizadas individualmente ou em grupo de no máximo 3 pessoas.

2º Dia – 28/05/05 (TARDE)

Apresentação das reflexões individuais/grupo (10 minutos cada)

Validação de pontos de congruência (30 minutos)

Definição dos próximos passos (1 hora)

PRIORIZAÇÃO DAS CARTAS PROPOSTAS

Critérios com pesos para priorização coletiva

CARTA PROPOSTAS	AVALIAÇÃO		Critérios								Priorização	
			Critério 1		Critério 2		Critério 3		Critério "n"		Total	Ordem
	Peso	Nota	Peso	Nota	Peso	Nota	Peso	Nota				
PROPOSTA 1	●●●●●	○●●●●	●●●●●	○●●●●	●●●●●	○●●●●	●●●●●	○●●●●	●●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 2	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 3	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 4	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 5	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 6	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 7	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		
PROPOSTA 8	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●	○●●●●		

LEGENDA

- Muito relevante - nota 2
- Pouco relevante - nota 1
- Nenhuma relevância - nota 0

ANEXO 5

**RESULTADO DO PROCESSO DE
FACILITAÇÃO PRODUZIDO A PARTIR DO
WORKSHOP DE ESTRUTURAÇÃO DA REDE
DE SUSTENTABILIDADE DE
ALTERNATIVAS ECONÔMICAS NO
PANTANAL**

DEFININDO A CADEIA DE VALOR DA REDE

Quem fornece os insumos?	Quem faz?	Quem são os beneficiários diretos?	Quem sofre as conseqüências?
Insumos	Ações	Produtos	Impactos
<p>Recursos humanos, recursos financeiros, equipamentos, instalações etc. Recursos humanos, recursos financeiros, equipamentos, instalações etc.</p>	<p>Identificação dos problemas da cadeia produtiva dos "objetos" de estudo; realização do levantamento da flora; capacitação, atração e fixação de recursos humanos (comunidade e acadêmicos); realização de pesquisas de bioprospecção (produção de conhecimentos básicos de espécies de interesse); divulgação e sensibilização da comunidade, governo etc.; validações requeridas para as espécies-alvo; manutenção e instalação de infra-estrutura; educação ambiental das comunidades; contribuição com informações e dados para formulação de políticas públicas capacitação, atração e fixação de recursos humanos (comunidade e acadêmicos); realização de pesquisas de bioprospecção (produção de conhecimentos básicos de espécies de interesse e transferência das tecnologias); validações requeridas para as espécies-alvo; estruturação de escritório de marcas e patentes (assessoramento); articulação/instalação de incubadoras; captação de recursos</p>	<p>Publicações técnicas e técnicas-científicas; sistemas de produção e manejo para espécies-alvo; produtos de origem vegetal com fins comerciais; eventos e cursos de capacitação; multiplicadores das tecnologias geradas; coleções de espécies vegetais; rede de biotecnologia vegetal; cadeia de produção; metodologias e técnicas; banco germoplasma; hortos medicinais; espécies domesticadas; banco de dados de espécies vegetais; publicações de síntese para subsidiar a tomada de decisão</p> <p>Publicações técnicas e técnicas-científicas; sistemas de produção e manejo para espécies-alvo; produtos de origem vegetal com fins comerciais; marcas e patentes; multiplicadores das tecnologias geradas; rede de biotecnologia vegetal; cadeia de produção; metodologias e técnicas; incubadoras de tecnologia; hortos medicinais; espécies domesticadas; portfólio (plano de negócios); contratos de distribuição de benefícios; publicações de síntese para subsidiar a tomada de decisão;</p>	<p>Redução do impacto ambiental e de doenças de agravo sanitário, mediante a valorização e utilização dos produtos do bioma pantanal eração de emprego e renda mediante o desenvolvimento de produtos com potencial de mercado</p>

SELEÇÃO DE PROPOSTAS PARA A REDE

TEMA: Desenvolvimento de Fitoterápicos

Projeto/Objetivos	Etapas de Execução	Tarefas	Responsáveis	Prazo de Execução
1. Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do Extrato etanólico de Echinodorus macrophyllus Michell	Ensaio de toxicidade em cães			
	Ensaio clínico (fases 1, 2 e 3)			
	Desenvolvimento da forma farmacêutica			
	Desenvolvimento agrônomico			
2. Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de Simaba ferruginea St. Hil.	Ensaio de toxicidade em cães			
	Ensaio clínico (fases 1, 2 e 3)			
	Desenvolvimento da forma farmacêutica			
	Desenvolvimento agrônomico			
3. Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a partir de Acosmim dasycarpum Yakovlev (Perobinha do Campo)	Necessita-se ainda complementar a fase pré-clínica e os estudos químicos			
Equipe Executora				
Projeto/Objetivos	Nome	Origem	e-mail	
1. Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do Extrato etanólico de Echinodorus	Domingos Tabajara de Oliveira Martins	Coordenador UFMT		
	Valdir Cechinel Filho	Fitoquímica - Univali		
	Lousã Lopes	Desenvolvimento químico-farmacêutico - UFMT		
	Joaquim Corsino da Silva Lima	Farmacologia - UFMT		

macrophyllus Michell	Harry Lorenzi	Botânico - Instituto Plantarum/SP	
2. Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de Simaba ferruginea St. Hil.	Domingos Tabajara de Oliveira Martins	Coordenador UFMT	
	Valdir Cechinel Filho	Fitoquímica - Univali	
	Lousã Lopes	Desenvolvimento químico-farmacêutico - UFMT	
	Joaquim Corsino da Silva Lima	Farmacologia - UFMT	
	Harry Lorenzi	Botânico - Instituto Plantarum/SP	
3. Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a partir de Acosmim dasycarpum Yakovlev (Perobinha do Campo)	Paulo Teixeira de Sousa Jr.	Química - UFMT	
	Evandro Luís Dall'Oglio	Química - UFMT	
	Paulo Cezar Vieira	Química - USFCar	
	Edeltrudes de Oliveira Lima	Microbiologia - UFPb	
	Uir Santana de Figueiredo	Química - UFMT	

Critérios para Análise da Proposta	Pesos dos critérios	Projeto 1		Projeto 2		Projeto 3		Projeto 4		Projeto 5		Projeto 6		Projeto 7		Projeto 8		Projeto 9		Projeto 10		Projeto 11		Projeto 12	
		Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total	Nota	Valor total
		1. Material Objeto do estudo de origem vegetal	3	10	30	10	30	10	30	10	30														
2. Material objeto do estudo de origem do pantanal	1	10	10	10	10	10	10	10	10																
3. Objetivos e resultados previstos com aderência às políticas públicas	3	10	30	10	30	10	30	10	30																
4. Produtos com potencial comercial	3	10	30	10	30	10	30	10	30																
5. Impacto econômico-social-ambiental	2	10	20	10	20	10	20	10	20																
6. Reunião do maior número de especialistas/instituições no Projeto (Potencialidade para o fortalecimento das instituições da Rede)	3	3 (1)	N/A	3 (1)	N/A	4 (1)	N/A	3 (3)	N/A																
7. Priorização de pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial	3	6	18	6	18	5	15	6	18																
		Total P1	138	Total P2	138	Total P3	135	Total P4	138	Total P5		Total P6		Total P7		Total P8		Total P9		Total P10		Total P11		Total P12	

Item 7: Parte Química = 5; Pré-clínico completo = 6; pré-clínico + clínico = 7; pré-clínico/clínico + agrônomo = 8; indústria = 10

CLASSIFICAÇÃO DOS PROJETOS

PROJETO 1: Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do Extrato etanólico de *Echinodorus macrophyllus* Michell

Critérios para Análise da Proposta	Pesos dos critérios	Nota Recebida em avaliação	Total de Pontos Recebidos
1. Material Objeto do estudo de origem vegetal	3	10	30
2. Material objeto do estudo de origem do pantanal	1	10	10
3. Objetivos e resultados previstos com aderência às políticas públicas	3	10	30
4. Produtos com potencial comercial	3	10	30
5. Impacto econômico-social-ambiental	2	10	20
6. Reunião do maior número de especialistas/instituições no Projeto	3	10	30
7. Priorização de pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial	3	10	30
TOTAL GERAL			180

PONTUAÇÃO POR PROJETO

PROJETO 2. Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de *Simaba ferruginea* St. Hil.

Critérios para Análise da Proposta	Pesos dos critérios	Nota Recebida em avaliação	Total de Pontos Recebidos
1. Material Objeto do estudo de origem vegetal	3	4	12
2. Material objeto do estudo de origem do pantanal	1	10	10
3. Objetivos e resultados previstos com aderência às políticas públicas	3	8	24
4. Produtos com potencial comercial	3	10	30
5. Impacto econômico-social-ambiental	2	10	20
6. Reunião do maior número de especialistas/instituições no Projeto	3	10	30
7. Priorização de pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial	3	10	30
TOTAL GERAL			156

PONTUAÇÃO POR PROJETO

PROJETO 3. Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a partir de *Acosmim dasycarpum* Yakovlev (Perobinha do Campo)

Critérios para Análise da Proposta	Pesos dos critérios	Nota Recebida em avaliação	Total de Pontos Recebidos
1. Material Objeto do estudo de origem vegetal	3	8	24
2. Material objeto do estudo de origem do pantanal	1	10	10
3. Objetivos e resultados previstos com aderência às políticas públicas	3	9	27
4. Produtos com potencial comercial	3	10	30
5. Impacto econômico-social-ambiental	2	7	14
6. Reunião do maior número de especialistas/instituições no Projeto	3	6	18
7. Priorização de pesquisas mais próximas de um produto com potencial comercial	3	10	30
		TOTAL GERAL	153

CLASSIFICAÇÃO DOS PROJETOS

Projetos	Pontos obtidos
Desenvolvimento de Fitoterápico com Ação Anti-Inflamatória e Anti-oxidante a partir de <i>Acosmim dasycarpum</i> Yakovlev (Perobinha do Campo)	153
Desenvolvimento de fitoterápico antiúlcera a partir do extrato etanólico de <i>Simaba ferruginea</i> St. Hil.	156
Desenvolvimento de fitoterápico antiinflamatório e analgésico a partir do Extrato etanólico de <i>Echinodorus macrophyllus</i> Michell	180

obs: basta classificar por pontos obtidos



LINHAS DE AÇÃO DA 3ª REDE

- Maior resultado: rede funcionamento (envolvimento de instituições parcerias num processo construtivo conjunto; produto com potencial comercial)
- A princípio: 3 anos

- **2 LINHAS TEMÁTICAS:**
 - Bioinseticidas
 - Fitoterápicos

Decisões tomadas:

- Projeto que possa agregar todos
- Escolha de uma planta ou mais plantas que possam ter respaldo nas duas áreas temáticas (planta que tenha relevância para a atuação da Rede. Se a Rede estiver fortalecida, as instituições estarão fortalecidas



DEFINIÇÃO DE CRITÉRIOS PARA A ESCOLHA DA PLANTA

1. BIOINSETICIDA: Espécie vegetal (erva, de preferência) para controle de vetores e pragas; planta nova, uso popular, mercado
2. FITOTERÁPICO: antidiabético e antiinflamatório; planta nova, uso popular, mercado,

PRÓXIMOS PASSOS

Considerações essenciais:

MATO GROSSO DO SUL: Define espécie do BIOINSETICIDA

Coordenador do Projeto: Rosemary Matias

Interlocutor: Antônia Railda Roel (buscar alguém da Farmácia da UCDB)

O que fazer: Escolha da espécie (em grupo) e elaboração do Projeto; articulação com o Estado do MT

Prazo: 11/07

MATO GROSSO: Define a espécie de FITOTERÁPICO

Coordenador do Projeto: Evandro Luiz Dall'Oglio

Interlocutor: Domingos Tabajara

O que fazer: Escolha da espécie (em grupo) e elaboração do Projeto; articulação com o Estado de MS

Prazo:11/07



ANEXO 6

PROJETOS QUE COMPÕEM A REDE PANTANEIRA DE BIOPROSPECÇÃO



Estudo Químico, Farmacológico e Agrônômico de
Bowdichia virgiloides* H.B.K. e *Sideroxylon obtusifolium

(R. Et S.) Penn. com Potenciais atividades

Antiinflamatória e Antidiabética

UFMT-UEMS-EMBRAPA-UNIDERP

Evandro Luís Dall'Oglio
UFMT
eldo13@terra.com.br

Cuiabá – MT
2005



Índice

Resumo	iii
1. Introdução	1
2. Justificativa	3
3. Objetivos	3
4. Materiais e Métodos	4
5. Resultados Esperados	16
6. Mecanismos de Transferência dos Resultados	16
7. Impactos	16
8. Equipe	17
9. Cronograma de Execução	19
10. Orçamento	20
11. Cronograma de Desembolso	20
12. Referências	21



Resumo

O uso de plantas para o combate a diversas enfermidades, assim como para diversas outras finalidades remonta aos inícios da civilização humana. Apesar de possuir um grande número de cientistas de alta capacitação, o Brasil, detentor da maior biodiversidade do planeta, pouco tem feito para tirar proveito desta riqueza natural, com grande potencial para trazer divisas para o país e benefícios para a espécie humana. A partir da triagem farmacológica realizada em duas espécies empregadas pela população pantaneira como antiinflamatórias e antidiabéticas, será selecionada a que apresentar melhores resultados para posteriores estudos químico-farmacológicos (pré-clínicos) e agronômicos (não descarta-se, no entanto, a hipótese da busca de outras espécies, caso as aqui selecionadas não apresentem resultados minimamente satisfatórios). Com base no uso popular e na escassez de estudos científicos que validassem o conhecimento tradicional, as espécies *Bowdichia virgilioides* H.B.K. (Sucupira- Preta) e *Sideroxylon obtusifolium* (R. Et S.) Penn [Laranjinha, Laranjinha-Brava, Laranjinha-Preta, Leiteiro-Preto (Poconé), Guajuvirá (Porto Murtinho)]. Uma vez comprovado o potencial de uma das espécies para a produção de um fitoterápico e efetuada a solicitação de patente junto ao INPI, buscar-se-á parceria com empresas, de modo a realizar as etapas posteriores (ensaios clínicos; farmacotécnicos e etc.). Este projeto tem caráter estruturante, sendo a primeira ação efetiva da recém criada “Rede Pantaneira de Bioprospecção”. O projeto pretende, desta forma, contribuir para a política industrial do governo federal, que tem na área de fármacos uma de suas prioridades. Ao fortalecer a competência científica das instituições da região do Pantanal através do trabalho em rede, busca também contribuir para a superação das desigualdades regionais em ciência & tecnologia, também prioridade no âmbito das políticas públicas federais.

Palavras-Chave: *Bowdichia virgilioides* H.B.K. ; *Sideroxylon obtusifolium* (R. Et S.) Penn;
Estudos químico-farmacológicos e agronômicos.



1. Introdução

O uso de plantas para o combate a diversas enfermidades, assim como para diversas outras finalidades remonta aos inícios da civilização humana (JOHNS, 1996; MILLIKEN; ALBERT & GOMEZ, 1999; MILLIKEN et al, 1996).

Apesar de possuir um grande número de cientistas de alta capacitação, o Brasil, detentor da maior biodiversidade do planeta, pouco tem feito para tirar proveito desta riqueza natural, com grande potencial para trazer divisas para o país e benefícios para a espécie humana.

Bowdichia virgilioides H.B.K. é uma árvore caudífera, que atinge 8 –16 metros de altura, com tronco de 30-50 cm de diâmetro, folhas pinadas com 9-21 folículos pubescentes, casca cinzenta (POTT & POTT, 1994; LORENZI, 1998), sendo conhecida popularmente em Mato Grosso como sucupira preta, sucupira (DE LA CRUZ, 1998; GONÇALVES, 1998; SOMAVILLA, 1999).

Em Mato Grosso é empregada pelos índios e não-índios, para o tratamento de micose, sífilis, doenças do sangue, **amigdalite**, **bronquite**, pneumonia, **inflamação do útero**, transtornos da pele, acne, **reumatismo e hipertermia** (DE LA CRUZ, 1998; GONÇALVES, 1998; SOUZA, 1998; SOMAVILLA, 1999). Em outras localidades é utilizada como diurética, depurativa, **antiartrítica**, **anti-reumática**, no tratamento de coceira, gota, **diabetes**, depurativa, aperitiva, digestiva (POTT, 1994; SANGUINETTI, 1998).

A obtenção de sementes é a partir da colheita direta dos frutos da árvore quando inicia-se a queda espontânea. Um quilograma de sementes puras contém aproximadamente 36.700 unidades, cuja viabilidade em armazenamento é superior a 4 meses (LORENZI, 1998). Técnicas para a germinação das sementes desta espécie têm sido descritas na literatura (SMIDERLE et al., 2003; FLORIANO, 2004; SILVA et al., 2001). BATALHA & MARTINS (1998) descrevem os padrões fenológicos de reprodução da *Bowdichia virgilioides*. LOCATELLI & MACHADO (2004) apresentam os padrões fenológicos de *Bowdichia virgilioides* e sua relação com fatores abióticos e bióticos assim como verificaram o espectro das síndromes de polinização desta árvore. BRAUWERS et al. (2002) mostraram o efeito de substratos e da adubação fosfatada sobre o desenvolvimento de mudas de *Bowdichia virgilioides*.

Estudos farmacológicos sobre *Bowdichia virgilioides* H.B.K. demonstraram atividade antifúngica do óleo essencial de *Bowdichia virgilioides* H.B.K., que foi testado *in vitro* sobre 12 cepas de levedura do gênero *Cândida spp.* isoladas de pacientes com infecção na cavidade bucal e pulmões, com inibição em média de 82% das leveduras, com halo de inibição em torno de 18 mm de diâmetro (LIMA et al., 1994). Também foi demonstrado por LIMA et al. (1996) a atividade antifúngica contra 23 cepas do gênero *Trichophyton*, isolados de pacientes com dermatofitoses (halo de inibição de 21 mm).

A atividade antidiarréica de *Bowdichia virgilioides* H.B.K. na dose de 500 mg/kg, i.p. e 1000 mg/kg, v.o. inibiu tanto a defecação normal, como foram eficazes em prevenir a diarreia induzida por óleo de rícino (0,1 mL v.o. por animal) e sulfato de magnésio (2 g/kg, v.o.) em camundongos. A atividade antimicrobiana *in vitro* testados na concentração de 15 mg/mL, inibiu o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* (DINIZ et al., 1990).

A ação hipoglicemiante extrato hidroalcoólico da casca de *Bowdichia virgilioides* H.B.K. foi demonstrada por LEÔNCIO et al. (1990), em ratas albinas em estado diabético induzido por estreptozotocina (STZ) (65 mg/kg, i.p.). Nestes ensaios houve uma redução de 59,7% na glicemia de jejum foi efetiva na dose de 1 g/kg/dia.

BARROS & MARTINS (2000) apresentaram estudos farmacológicos e toxicológicos do extrato etanólico da casca do caule de *Bowdichia virgilioides* H.B.K. referente às atividades antiedematogênicas, antipirética, analgésica, bem como ausência de atividade analgésica



central. Os estudos toxicológicos mostraram baixa toxicidade aguda e certo grau de toxicidade subcrônicas orais.

A atividade antimalárica do extrato etanólico da casca do caule de *Bowdichia virgilioides* H.B.K. foi demonstrada por DEHARO et al. (2001) em testes *in vitro* contra o *Plasmodium falciparum* e testes *in vivo* em camundongos infectados com *Plasmodium bergeri*.

DOMINGUES et al. (1999) verificaram a atividade antiedematogênica do óleo da semente de *Bowdichia nitida* Spruce frente aos modelos de carragenina e bradiginina. No modelo de edema de orelha produzido pela aplicação de óleo de croton 2,5%, o óleo de sucupira - *Bowdichia sp* (0,3 g/kg, v.o.) reduziu o edema em 54%.

Apesar de existir alguns estudos farmacológicos demonstrando as atividades antiinflamatória e antidiabética da casca do caule e semente de *Bowdichia virgilioides*, não há nenhum relato na literatura científica abordando esses efeitos para a batata da raiz desta planta.

A análise fitoquímica da casca do caule de *Bowdichia virgilioides* revelaram as presenças de taninos, lupeol e acetato de lupeol (CALLE et al., 1983; MELO et al, 2001), alcalóides e terpenóides (TORRNEGRA et al., 1989; MARINHO, 1994), constituintes voláteis e flavanóides (ARRIAGA et al., 2000; VELOSO et al., 1999), sitosterol, estigmasterol e bowdenol (MELO et al, 2001), os alcalóides acosmina, ormosanina, podopetalina e bowdichina (BARBOSA-FILHO et al., 2004), isolado da entrecasca da *Bowdichia virgilioides*. Da raiz foram isolados derivados da flavona e constituintes voláteis (ARRIAGA et al., 1998; ARRIAGA et al., 2000). Dos frutos de *B. virgilioides* são relatadas as presenças de geraniol e carofilenos (JORGE-NETO, 1989)

Sideroxylon obtusifolium (R. Et S.) Penn é uma árvore, com altura variando de 5 a 20 metros, às vezes em forma arbustiva, com vários troncos (rebrotá), casca sulcada, ramos algo pendidos e copa fechada. É conhecida popularmente Laranjinha, laranjinha-brava, laranjinha-preta, leiteiro-preto (Poconé), guajuviraí (Porto Murtinho). RICHTER & DALLWITZ (2000) relatam a distribuição geográfica desta espécie também no sul do Brasil e América do Sul temperada, assim como o aproveitamento da madeira para fins comerciais. FRANCESHINI (2002) relata o uso do fruto de *Sideroxylon obtusifolium* para fins comestíveis, e o uso externo da tintura ou decocto da casca do caule no combate a inflamações e contusões, assim como cicatrizante.

Os estudos e agrônômicos acerca de *Sideroxylon obtusifolium* são escassos e restringe-se apenas ao trabalho de FRANCESHINI (2002) que relata as fases florais, o nectário e a anatomia florais de *Sideroxylon obtusifolium*.

Na literatura científica não há nenhum estudo acerca das atividades antiinflamatória e antidiabética da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium*,. DESMARCHELIER et al. (1999) relatam as propriedades antioxidantes e varredora de radicais livres *in vitro* dos extratos aquoso e metanólico da casca do caule da referida planta. DESMARCHELIER & BARROS (2000) descrevem atividade antioxidante *in vivo* do extrato metanólico de *Sideroxylon obtusifolium*. Com relação aos estudos fitoquímicos, não foi encontrado nenhum trabalho relatando a composição química da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium*.



2. Justificativa

Os estudos químicos e farmacológicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e de *Sideroxylon obtusifolium* justificam-se face aos amplos relatos do uso destas espécies pela medicina popular e à escassez de estudos científicos que comprovem as ações farmacológicas relatadas pela população. É também de vital importância a verificação dos aspectos toxicológicos e a determinação dos princípios ativos, fundamentais para a validação e controle de qualidade de qualquer fitoterápico. Em função dos resultados farmacológicos obtidos, pretende-se selecionar uma das duas espécies mencionadas para a conclusão dos estudos pré-clínicos. Os estudos agrônômicos somente serão realizados caso a(s) espécie(s) apresente(m) grande potencial para a produção de um fitoterápico.

3. Objetivos

3.1 Gerais

- Fortalecer a competência científica das instituições da região do Pantanal através do trabalho em rede, que busca tirar proveito das vantagens comparativas das instituições regionais;
- Estruturar a Rede Pantaneira de Bioprospecção;
- Realizar os estudos necessários para identificar uma espécie com potencial para a produção de um fitoterápico, o que deverá ser feito, futuramente, por meio de parcerias universidade-empresa;
- Contribuir para as políticas públicas de superação das desigualdades regionais em C&T.

3.2 Específicos

- Proceder a coleta da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium* assim como os estudos botânicos;
- Preparar extratos metanólicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium*;
- Proceder a triagem antiinflamatória e antidiabética dos extratos metanólicos de *Bowdichia virgilioides* e *Sideroxylon obtusifolium*, visando a seleção de uma planta desenvolvimento de fitoterápicos;
- Preparar subextratos e frações da planta selecionada;
- Efetuar o monitoramento químico-farmacológico (antiinflamatório e antidiabético) dos subextratos e frações da planta selecionada;
- Realizar a validação pré-clínica do extrato ou subextrato ou fração da planta selecionada;
- Padronizar o extrato ou subextrato ou fração com atividade farmacológica;
- Isolar e promover a elucidação estrutural dos compostos com potencial atividade antiinflamatória e antidiabética;
- Realizar estudos agrônômicos da planta selecionada.



4. Materiais e Métodos

4.1 Materiais

4.1.1 Seres Vivos

Os camundongos e ratos utilizados nos experimentos serão fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso.

Serão utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss-Webster, adultos, com idade de 1,5 a 3 meses, de ambos os sexos, pesando entre 20 a 30 g, com variação média máxima de 5 g entre os grupos experimentais de cada teste farmacológico. Também serão utilizados ratos albinos (*Rattus norvegicus*), variedade Wistar, adultos, com idade de 1,5 a 3 meses, de ambos os sexos, pesando entre 150 a 320 g, com variação média máxima de 20 g entre os grupos experimentais de cada teste farmacológico. Os animais serão mantidos em gaiolas de propileno, em ambiente com temperatura controlada (25 ± 1 °C), em ciclo de claro/escuro de 12 h e tratados com água e ração Purina® (Labina) *ad libitum*. Os animais permanecerão no laboratório por um período de adaptação de pelo menos 24 horas antes da realização dos experimentos.

Para o bioensaio de citotoxicidade foram utilizadas *Artemia salina* Leach em fase de náuplio.

4.2. Material Botânico

Bowdichia virgilioides H.B.K. e *Sideroxylon obtusifolium* (R. Et S.) Penn. serão coletadas no Pantanal matogrossense pelo Técnico de Laboratório Libério Amorim Neto, do Departamento de Botânica e Ecologia (BOTEÇO), do Instituto de Biociências (IB), da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), com a participação de Técnico de Laboratório MSc. Joaquim Corsino Silva Lima, da Bolsista Prodoc Regilane Matos da Silva, da Área de Farmacologia, do Departamento de Ciências Básicas em Saúde, da Faculdade de Ciências Médicas da UFMT.

A identificação botânica das plantas será realizada pelo Prof. Dr. Germano Guarim Neto, do BOTEÇO da Universidade Federal do Mato Grosso e a ratificação taxonômica pelo Engenheiro. Agrônomo Ms. Harri Lorenzi, do Instituto Plantarum, da Flora Ltda., em Nova Odessa -SP.

Amostras testemunhas do material florífero e herborizado serão depositadas no Herbário Central da UFMT para obtenção de exsiccatas.

4.2 Métodos

4.2.1 Avaliação Toxicológica

A. Teste Hipocrático

Serão utilizados 3 camundongos por grupo, tratados via oral (v.o.) ou intraperitoneal (i.p.), com doses crescentes do extrato metanólico da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule da *Sideroxylon obtusifolium*. Um animal controle será utilizado para cada dose, recebendo o veículo (10 mL/kg, v.o. ou 2,5 mL/kg i.p.). Todos os animais serão observados individualmente em campo aberto, após a administração dos extratos, nos tempos 0 (antes) e 15, 30 min.; 1, 2, 4 e 8 h e, uma vez, a cada dia, durante uma semana. Os resultados das observações comportamentais gerais serão anotados em tabela adaptada do trabalho de MALONE (1983).

B. Dose Letal 50 (DL₅₀)



Para a determinação da DL₅₀ utilizar-se-á o método de MILLER & TAINTER (1944). Doses crescentes dos extratos metanólicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule da *Sideroxylon obtusifolium* serão administradas por v.o. ou i.p., em grupos de 10 camundongos cada (5 machos e 5 fêmeas). Decorridas 24 h, será contado o número de animais mortos e expressos em termos percentuais, por sua vez, transformados em probitos e plotados na ordenada contra o logarítmo das doses na abcissa.

C. Citotoxicidade com *Artemia salina* Leach

A citotoxicidade será avaliada conforme a técnica modificada descrita por MEYER et al. (1982). Os cistos de *Artemia salina* Leach serão acondicionados em um recipiente contendo água marinha artificial (sal marinho 3%), mantidos abrigados da luz à temperatura de 25 a 30 °C e com aeração contínua, por meio de uma bomba de ar de aquário. Decorridos 48 h, as larvas em estágio de náuplio, serão separadas dos cistos que não eclodiram, colocando-se em recipiente próximo a uma fonte de luz, e com a ajuda de pipeta automática de 10 µL, retirando-se aquelas larvas com bastante movimento, depositando-as em tubos de ensaio (10 larvas/tubo). Serão preparados tubos de ensaio em triplicata, com concentrações crescentes dos extratos metanólicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium*, usando-se como padrão positivo o sulfato de quinidina (1, 10, 50, 100 e 1000 µg/mL) e o sal marinho (3 %) como controle negativo. Após 24 h, com auxílio de uma lupa estereoscópica, será realizada a contagem das larvas mortas (sem movimento) e vivas (com movimento), para o cálculo da porcentagem de mortalidade das larvas, usando a média de cada triplicata e assim obtendo-se a Concentração Letal 50 - CL₅₀ (MILLER, & TAINTER, 1944).

D. Toxicidade subcrônica

A toxicidade subcrônica será determinada através da administração oral, única e diária de três doses dos extratos metanólicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium*, ou do veículo, por um período de 30 dias, conforme proposto por CHAN et al. (1982). O peso corporal, os consumos de água e ração, o volume de urina e a excreção fecal serão determinados a cada 3 dias, assim como a presença de sinais e sintomas de toxicidade, compreendendo alterações na pele, pêlos, mucosas, olhos, sistemas circulatório, gastrointestinal, respiratório, nervoso central e periférico. Ao final do período, os animais serão anestesiados com éter etílico, coletado o sangue através da veia cava inferior, para a realização dos parâmetros hematológicos (leucócitos totais, hemácias totais, hemoglobina, hematócrito, plaquetas totais, linfócitos absolutos e relativos) e de dosagens sorológicas (glicose, uréia, creatinina, transaminases oxalacética e pirúvica, colesterol total, triglicerídeos, fosfatase alcalina e proteínas totais). Em seguida, os animais serão sacrificados com sobredose de éter, e o fígado, coração, pulmão, rins e baço, retirados, autopsiados e pesados para determinação do peso relativo [(peso do órgão/peso corporal) x 100] e acondicionados em formol 10 % para uma posterior análise histológica.

4.2.2 Triagem Antiinflamatória

Edema de pata por carragenina

Ratos machos, pesando entre 180 a 200 g, distribuídos em grupos de 8 animais cada, mantidos em jejum por 18 h, com livre acesso à água, receberão v.o., veículo, 3 doses dos extratos metanólicos da batata da raiz de *Bowdichia virgilioides* e da casca do caule de *Sideroxylon obtusifolium* e indometacina (5 mg/kg). Após 1 h, os animais receberão injeção intraplantar de 0,1 mL de carragenina 1 % (p/v) na pata traseira esquerda e igual volume de salina 0,9 % (p/v) na pata contralateral (WINTER et al., 1962). O volume de ambas as patas serão medidas em pletoímetro, antes (tempo zero) e nos tempos 1, 2, 3 e 4 h após a indução do edema. A diferença entre os volumes das patas (mL) será tomada como medida do edema.



4.2.3. Estudos Antiinflamatórios da Planta Seleccionada

A. Edema de Pata por Dextrana

Ratos machos, pesando entre 180 a 200 g, distribuídos em grupos de 8 animais cada, mantidos em jejum por 18 h, com livre acesso à água, receberão v.o., veículo, extrato metanólico (3 doses), subextratos ou frações da planta seleccionada ou ciprooptadina (5mg/kg). Após 1 h, os animais receberão injeção intraplantar de 0,1 ml de dextrana 1,5% (p/v) na pata traseira esquerda e igual volume de salina 0,9 % na pata contralateral (STUCKI & THOMPSON, 1958 e WINTER et al., 1962). O volume de ambas as patas serão medidas em pletismômetro, antes (tempo zero) e nos tempos 15, 30, 60 e 120 min após a indução do edema. A diferença entre os volumes das patas (mL) será foi tomada como medida do edema.

B. Edema de Pata por Bradicinina (BK), Prostaglandina (PGE₂) e Substância P (SP)

Camundongos machos, pesando entre 25 a 30 g, distribuídos em grupos de 8 animais cada, mantidos em jejum por 18 h, com livre acesso à água, receberão v.o., veículo, extrato metanólico (3 doses), subextratos ou frações da planta seleccionada. Após 1 h, os animais receberão injeção intraplantar de 50 μ L de PBS contendo BK (3 nmol/pata), PGE₂ (30 nmol/pata) ou SP (20 nmol/pata) na pata traseira esquerda e igual volume de PBS (50 μ L) na pata contra-lateral. O aumento do volume da pata será medido em pletismômetro, em vários intervalos de tempo (10, 20, 30, 60 e 120 min após a injeção de BK; 30, 60, 120 e 240 min após a injeção de PGE₂; 15, 30, 45, 60, 120 e 180 min após a injeção de SP) após a indução do edema. A diferença entre os volumes das patas será quantificada e tomada como medida do edema. No experimento em que será utilizada a BK, os animais serão pré-tratados com captopril (5 mg/kg, v.o.), um inibidor da cininase II, uma hora antes da indução do edema, a fim de prevenir a degradação do peptídeo.

C. Pleurisia Induzida por Carragenina

A pleurisia será produzida pela injeção intrapleural de 0,1 mL de carragenina 2%, em salina 0,9 % (p/v), conforme o método de VINEGAR et al. (1978). Ratos machos, distribuídos em grupos de 8 animais cada, pesando entre 180 a 200 g, em jejum de ração por 18 h, receberão por v.o., veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta seleccionada, indometacina (10 mg/kg) ou dexametasona (0,5 mg/kg), 1 h antes da injeção do agente flogístico. Após 6 h, os animais serão sacrificados com sobredose de éter etílico, a cavidade torácica aberta, o exsudato pleural coletado por aspiração e o volume aferido em proveta de 10 mL, utilizando EDTA 0,1 % (p/v) em salina 0,9 % (p/v), para lavagem da cavidade torácica e ajuste do volume final do exsudato (10 mL). O exsudato será homogeneizado por inversão suave. Uma alíquota de 50 μ L de cada frasco será retirada, e diluída com 950 μ L de solução de Turk diluída em salina 0,9 % (1:20 v/v). A contagem do número de leucócitos totais será realizada através de hemocítômetro de Neubauer e determinada pela expressão $LT = LC \times 0,25 \times 10^6$, onde:

LT = número de leucócitos totais (em milhões)

LC = número de leucócitos contados

D. Permeabilidade Vascular Peritoneal

Para este teste será seguido o método de WHITTLE (1964). Grupos de 8 camundongos machos, pesando entre 25 a 30 g, em jejum por 18 h, com acesso apenas à água, serão tratados oralmente com veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta seleccionada ou indometacina (5 mg/kg). Após 1 h, cada animal receberá, por via intravenosa,



0,1 ml/10 g/p.c. de azul de Evans 2 % (p/v), diluído em salina 0,9 %. Decorridos 10 min será administrado ácido acético 0,5 % (0,4 mL, i.p.). Após Vinte minutos, os camundongos serão sacrificados por sobredose de éter etílico. A cavidade abdominal será aberta e lavada com salina 0,9 %. O lavado será filtrado em lâ de vidro para frascos contendo 0,1 mL de NaOH 0,1 N e o volume final completado para 10 mL. A densidade óptica do corante extravasado será analisada contra um branco (salina 0,9 %) a 590 nm, por meio de um espectrofotômetro. A quantidade do corante extravasado para a cavidade peritoneal será então calculado, a partir de uma curva padrão de azul de Evans e expresso em μg .

E. Dermatite Tópica por Óleo de Croton

Para a produção de inflamação cutânea, será seguido o método de SWINGLE et al. (1981). Grupos de 8 camundongos pesando entre 25 a 30 g, serão tratados topicamente, em cada uma das orelhas, com 20 μL de veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou dexametasona (5 μg). Após 30 min, cada animal receberá na face interna da orelha direita, 20 μL de óleo de croton em acetona 5 mg/mL (100 μg /orelha), sendo administrado na orelha esquerda igual volume de acetona. Passadas 6 h da aplicação do agente irritante, os animais serão sacrificados com sobredose de éter e ambas as orelhas serão extirpadas na base e pesadas em balança analítica. A extensão do edema será expressa em termos da diferença de peso entre a orelha edemaciada e a orelha tratada com veículo (acetona).

F. Granuloma induzido por pelotas de algodão

Para a avaliação do granuloma pelo implante de corpo estranho será utilizado o método WINTER & PORTER (1957). Para tanto, ratos machos, distribuídos em grupos de 8 animais cada, pesando entre 180 a 200 g, serão anestesiados com éter etílico, depilados e submetidos á incisão dorsal na região sub-escapular, para implante bilateral de duas “pelotas” de algodão (50 ± 1 mg), previamente autoclavadas por 1 h, a 120 °C. Vinte quatro horas após o implante, em jejum de ração por 1 h antes dos tratamentos, os animais serão tratados v.o., por seis dias consecutivos, com veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou dexametasona (0,5 mg/kg). Após o sexto dia, os animais serão sacrificados por sobredose de éter etílico e os tecidos encapsulados úmidos serão extraídos e pesados, secos em estufa a 60 °C por 24 h. A variação do edema foi obtida pela subtração do peso úmido, de cada tecido, pelo peso do algodão (50 mg), considerando-se a média aritmética das duplicatas. A diferença entre o peso de cada tecido encapsulado seco e o algodão implantado (50 mg) foi tomada como a medida do granuloma, considerando-se a média aritmética das duplicatas.

G. Artrite induzida por Adjuvante de Freund

A artrite será induzida pela injeção intraplantar de 0,1 mL de complexo Adjuvante de Freund na pata posterior esquerda do rato (NEWBOULD, 1963). O volume da pata injetada com agente flogístico será medido imediatamente após (volume basal) e a cada 3 dias, por um período de 30 dias. Veículo e fenilbutazona (100 mg/kg) serão administrados (v.o.), uma vez ao dia, por 30 dias. O extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada serão administrados durante os primeiros 15 dias (1ª fase) ou do 16º ao 30º dia (2ª fase) seguintes à administração do Adjuvante. O edema da pata será obtido pela diferença entre o volume basal e o volume do edema obtido durante o período de 30 dias. Paralelamente à avaliação antiinflamatória, registrará-se o ganho de peso corporal dos ratos, a cada 7 dias. No 30º dia de ensaio, os animais da 2ª fase serão sacrificados para a coleta de sangue, destinado para a determinação sorológica de Proteína C Reativa (aglutinação direta de partículas de látex).



4.2.4 Avaliação da Atividade do Extrato Metanólico da Planta Seleccionada Frente à Resposta de Mediadores da Resposta Inflamatória em Preparações Isoladas.

A. Atividade em útero de rata

Ratas Wistar, pesando entre 180 a 250 g, serão tratadas 24 h antes do início do experimento com benzoato de estradiol (0,5 mg/kg, s.c.) e sacrificadas, seguindo da secção dos vasos cervicais. Fragmentos uterinos (15 – 20 mm de comprimento) serão montados em cuba de vidro de 5 mL, contendo solução de Jalon aquecida à 30 °C, aeradas com carbogênio (95% O₂ + 5% de CO₂) com a seguinte composição (mM): NaCl 154; KCl 5,6; CaCl₂ 0,2; MgCl₂ 1,4; NaHCO₃ 1,7 e glicose 5,5. As concentrações isotônicas serão registradas em polígrafo (CALIXTO et al., 1988). Decorrido um período de 30 min, para a estabilização das preparações, estas serão estimuladas pela adição de KCl (80 mM). Após a obtenção da contração ao KCl e a lavagem das preparações, serão construídas curvas concentração-resposta contráteis aos extrato, subextratos ou frações, através de método cumulativo, na ausência ou presença de fármacos conhecidos (ACh 10⁻⁹ a 10⁻³ mM; BK 10⁻¹⁴ a 10⁻⁶ mM; Histamina 10⁻¹¹ a 10⁻⁴ mM ou CaCl₂ 1 μM – 1 M), por ativar e/ou bloquear seletivamente vários receptores ou canais iônicos. Todos os fármacos serão incubados com as preparações durante 20 a 30 min antes da administração dos extratos, subextratos ou frações. Para evitar taquifilaxia, somente uma única curva concentração-resposta completa dos extrato, subextratos ou frações da planta seleccionada, serão obtidas na ausência ou presença dos antagonistas, e serão quantificadas em relação à contração causada pelo KCl.

B. Íleo isolado de cobaia

Cobaias de ambos os sexos pesando entre 300 e 400 g, serão sacrificados e após a abertura da cavidade abdominal, a porção do íleo será isolada a 15 cm da junção ileocecal. Preparações com cerca de 15 a 20 mm de comprimento serão montadas em cubas contendo 5 mL de solução nutritiva de Krebs-Henseleit, aeradas continuamente com carbogênio (95% O₂ + 5% de CO₂) e mantidas à 37 °C. A solução de Krebs-Henseleit terá a seguinte composição (mM): NaCl 118; KCl 4,7; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1,1; NaHCO₃ 25,0; KH₂PO₄ 0,9 e glicose 11,0. As preparações serão montadas para registro de contrações isotônicas em polígrafo (MEDEIROS & CALIXTO, 1993).

Após 30 min de equilíbrio, serão construídas curvas concentração-resposta contráteis à Histamina (10 pM a 10 μM) ou 5-HT (10⁻¹¹ a 10⁻⁴ mM), através do método cumulativo. Após a obtenção de uma ou duas curvas controle para cada agonista, serão realizadas curvas concentração-resposta para os agonistas, na presença dos extratos, subextratos ou frações da planta seleccionada, incubados nas preparações durante 20 min. As repostas contráteis obtidas para os agonistas na ausência ou na presença dos compostos serão quantificadas em relação à resposta máxima da curva controle para cada agonista.

4.2.5. Determinações de Mediadores da Inflamação em Cultura de Células

A. Isolamento e cultura de macrófagos

Todos os ensaios serão realizados usando preparados de macrófagos peritoneais de ratos elicitados por tioglicolato, de acordo com a técnica de LI et al (1997). Após o isolamento, os macrófagos serão lavados duas vezes com HBSS e finalmente suspensos a uma densidade de 1 x 10⁶/mL em vermelho de fenol gelado, livre do meio RPMI-140 e suplementado com soro bovino fetal 10%, 100U/mL de penicilina e 100 μg/mL de estreptomicina. A viabilidade celular >95% será confirmada pelo ensaio de exclusão de azul de tripan. As células serão incubadas a 37°C e 5% CO₂ por 2 h para permitir que os macrófagos adiram à superfície das placas de cultura. As células não aderentes serão removidas por lavagem vigorosa com HBSS e as monocamadas de macrófagos aderentes serão mantidas no meio acima mencionado a 37°C e 5% CO₂.



B. Ensaio de Prostaglandinas E₂ (PGE₂)

Os macrófagos (1 x 10⁶ por poço) serão incubados com 10 µg/mL de LPS na presença do extrato, subextratos ou frações da planta selecionada, 0,1 µM de dexametasona ou veículo por 24 h a 37°C. O nível de PGE₂ será determinado no sobrenadante da cultura por radioimunoensaio - RIE (MORONEY et al, 1988).

C. Análises de Nitrito

Ensaio de NO

Os macrófagos (1 x 10⁶ por poço) serão incubados com 10 µg/mL de LPS na presença do extrato, subextratos ou frações da planta selecionada, 0,1 µM de dexametasona ou veículo por 24 h a 37°C. A quantidade de nitrito (tido como o índice NO) liberado no sobrenadante da cultura será determinado pelo reagente de Griess (GREEN et al., 1982). Após a aspiração do meio para a determinação de nitrito, a viabilidade dos macrófagos será determinada através da incubação de macrófagos com 5 mg/mL de MTT por 1 h.

A varredura de NO será determinada pela incubação de 5 mM de nitroprussiato de sódio (NPS) com extrato, subextratos ou frações da planta selecionada a 25°C. Em diferentes intervalos de tempo, 0,5 mL da solução de incubação será retirada e o conteúdo de nitrito determinado com o reagente de Griess.

Ensaio de iNOS

A atividade da iNOS será determinada no citosol de macrófagos pelo método de MOESLINGER et al. (2000). Os macrófagos cultivados na presença de 10 µg/mL de LPS por 24 h serão rompidos por meio de 3-4 ciclos congela –descongela em 50 mM de Tris-HCl contendo 0,1 mM de EDTA, 0,1 mM EGTA, 1 mM de fenilmetilsulfonilfluoreto, 1 µM de peptastina A e 0,1% de 2-mercaptoetanol. O lisato celular será centrifugado a 15.000 x g por 30 min para obter-se o citosol. A iNOS será determinada no citosol por conversão de L-[³H]-arginina para L-[³H]-citrulina. A mistura do ensaio consistindo de 1mM de NADPH, 10 µM de FAD, 1 mM de ditiotreitól, 100 µM de de tetraidrobiopterina, 10 µM de L-arginina, 0,3 µCi de e L-[³H]-arginina e 100 µl de citosol de macrófagos será incubada a 37°C por 60 min. A reação será interrompida pela adição de 2 mL de solução tampão estacionante gelada (30 mM de HEPES, 5 mM EDTA, pH 5,5). L-[³H]-citrulina será separado de L-[³H]-arginina coluna de troca de cations em Dowex 50 WX 4 (forma sódica) e quantificada num cintilador.

Captação de Arginina

Para estudar a captação de arginina, as monocamadas de macrófagos serão incubadas com 2 µCi de L-[³H]-arginina por 60 min após o tratamento com extrato, subextratos ou frações da planta selecionada ou 0,1 de dexametasona por 24 h. Após a incubação, o médio será aspirado e as células serão lisadas com 0,3 M de NaOH contendo de sulfato de duodecíl sódico 1% depois de minuciosa lavagem. A quantidade de radioatividade no lisato celular será quantificada em contador de cintilação.

D. Produção de O₂^{•-} (explosão respiratória)

Os macrófagos (2 x 10⁶ por poço), pré-tratados com extrato, subextratos ou frações da planta selecionada, por 2, 4 ou 6 h a 37°C serão incubados com 0,1 µM de PMA e 80 µM de ferritocromo c por 90 min. Após a incubação, a quantidade de superóxido liberada será determinada de acordo com PICK & KEISARI (1981). A habilidade scavenging do O₂^{•-} será



determinada pela incubação de 100 μ M de hipoxantina, 60 v de tetrazólio nitroazul, 0,07 U/mL de xantina oxidase na presença e ausência (controle) de extrato, subextratos ou frações da planta selecionada a 25°C por 15 min. Após a incubação, a absorbância será imediatamente registrada a 560 nm contra um branco o qual não conterá a enzima.

4.2.6. Avaliação da Atividade Antiinflamatória *In Vitro*

A. Dosagens de prostaglandinas, citocinas e quimiocinas

O efeito do extrato, subextratos ou frações da planta selecionada sobre a produção de mediadores inflamatórios, será determinado utilizando-se sistema *in vivo*, através da técnica de ELISA utilizando kits de dosagem específicos para os mediadores em questão. Os principais mediadores a serem dosados são: PGE₁, PGE₂, IL-1, IL-2, IL-8, TNF- α , NO, RANTES, MIF e MCP-1.

B. Dosagem de Interleucinas, TNF- α , RANTES, MIF e MCP-1

A dosagem de TNF- α será realizada, a partir do exudato pleural obtido do teste de pleurisia induzida por carragenina de acordo com a técnica descrita por MARZOCCO et al., 2004.

C. Dosagem de NO *in vivo*

A concentração total de nitrito será medida usando a reação de Griess por adicionar 100 μ L do reagente Griess (0,1%) dihidroclorato de naftiletieno de amida em água e 1% de sulfanilamida em H₃PO₄ 5% para 100 μ L do exudato pleural obtido do teste de pleurisia induzida por carragenina (MARZOCCO et al., 2004), como também, exudato obtido do granuloma induzido por pelotas de algodão (HABASHY et al., 2005).

D. Dosagem de PGE₁ e PGE₂

A quantidade de PGE₂ será mensurada a partir do exudato pleural obtido do teste de pleurisia induzida por carragenina (MARZOCCO et al., 2004), como também, exudato obtido do granuloma induzido por pelotas de algodão (SHIVKAR & KUMAR, 2004). Os níveis de PGE₂ serão expressos como pg/rato.

4.2.7 Atividade Antipirética

Pirexia induzida por levedura de cerveja

A indução da hipertermia nos animais será realizada utilizando grupos com 8 ratos machos, pesando entre 150 e 180 g, em jejum de ração por 18 h, aclimatados por 2 dias, a uma temperatura de 25 \pm 1 °C, em local isento de ruídos e com acesso apenas ao pesquisador. Os animais receberam, 10 mL/kg, (s.c.) de uma suspensão de levedura de cerveja 20 % em salina 0,9 % (p/v). Após 21 h (tempo zero), a temperatura retal será monitorada durante 1 min com um termômetro clínico inserido 3 cm na ampola retal. Imediatamente após, o veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou fenacetina (175 mg/kg) serão administrados por via oral e, as temperaturas retais, tomadas 1, 2 e 3 h após os tratamentos. Numa outra série, 8 animais receberão 1 mL/100g de salina 0,9 % estéril. Após esse tempo, administrou-se por via oral o veículo e, as temperaturas retais, tomadas seguindo os procedimentos anteriormente descritos para os demais grupos (NIPPON, 1977).

4.2.8 Atividade Antinociceptiva



A. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

Para a indução de nocicepção “periférica”, será utilizado o método de KOSTER et al. (1959). Camundongos machos, distribuídos em grupos de 8 animais cada, pesando entre 20 a 25 g, em jejum de ração por 18 h, aclimatados por 2 dias, a uma temperatura de 25 ± 1 °C, em local isento de ruídos e com acesso apenas ao pesquisador, receberão por v.o., veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou 5 mg/kg de indometacina. Após 1 h, os animais receberão uma injeção de ácido acético 0,6 % em salina 0,9 % (0,1 mL/10g) e, as contorções abdominais (*writhings*), contadas durante os 30 min subseqüentes. As contorções abdominais consistem de ondas de constrição e alongamento, passando caudalmente ao longo da parede abdominal, acompanhada por contorção do tronco e extensão das patas traseiras.

B. Teste da placa quente

Para avaliação da possível atividade analgésica central, será utilizado o método da placa quente (EDDY & LEIMBACH, 1959). Serão utilizados camundongos machos, pesando entre 25 a 30 g, em jejum de ração por 18 h, aclimatados por 2 dias, a uma temperatura de 25 ± 1 °C, em local isento de ruídos e com acesso apenas ao pesquisador. Somente os animais que levantaram a pata traseira em até 10 s, quando em contato com a placa quente aquecida a 56 ± 1 °C serão incluídos no teste. Por questões éticas, nenhum animal permanecerá na placa quente por mais de 45 s. Os animais, distribuídos em grupos de 10 animais cada, serão tratados oralmente com veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou meperidina 25 mg/kg (s.c.). Após 1 h ou 15 min (no caso da meperidina), os animais serão colocados em contato com a placa quente e o tempo de reação à dor, caracterizado pela retirada de uma das patas traseiras da placa, será medido antes (-120, -60, 0 min) e após 60, 90, 120 e 180 min aos tratamentos.

C. Teste da formalina

O procedimento utilizado para indução de nocicepção central e “periférica” será uma adaptação do modelo de HUNSKAAR et al. (1985). Serão utilizados camundongos machos, pesando entre 25 e 30 g, em jejum de ração por 18 h, aclimatados por 2 dias, a uma temperatura de 25 ± 1 °C, em local isento de ruídos e com acesso apenas ao pesquisador. Os animais serão distribuídos em grupos de 8 cada e tratados oralmente com veículo, extrato (3 doses), subextrato ou frações da planta selecionada, indometacina (5 mg/kg) ou meperidina (25 mg/kg, s.c.). Uma hora após ou 30 min (no caso da meperidina), cada camundongo receberá por injeção intraplantar, 25 µL de solução de formaldeído 2,5 % em salina 0,9 % (v/v) na pata posterior esquerda. Imediatamente, os animais serão colocados sob uma redoma de vidro espelhado e o tempo despendido lambendo ou mordendo a pata injetada com formalina será cronometrado durante os 5 min iniciais (1ª fase) e no intervalo de 20 e 30 min (2ª fase) que se seguiram à injeção do agente nóxico.

D. Teste da Capsaicina

Será seguido o método de BUCK & BURKS (1986) e de SANTOS & CALIXTO (1997). Serão utilizados camundongos machos, pesando entre 20 a 25 g, em jejum de ração por 18 h, aclimatados por 2 dias, a uma temperatura de 25 ± 1 °C, em local isento de ruídos e com acesso apenas ao pesquisador. Os animais, distribuídos em grupos de 8 cada, serão tratados oralmente 1 h antes da capsaicina com veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada ou meperidina (25 mg/kg, s.c.) 30 min antes. Os animais, após um período de adaptação de 20 min, receberam 20 µL de capsaicina (1,6 µg/pata), injetada na região intraplantar da pata posterior direita. Após, a injeção foi cronometrado durante 5 min, o tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada com capsaicina, sendo esse tempo considerado como indicativo de nocicepção.

4.2.9 Avaliação antidiabética



A. Triagem antidiabética

A.1. Indução do diabetes

Serão utilizados animais machos, não diabéticos, diabéticos tipo 1 e diabéticos tipo 2. Os animais diabéticos Tipo 1, serão obtidos pela administração da estreptozotocina (STZ) na veia peniana na dose de 47 mg/Kg em tampão citrato 0,01M em ratos adultos. Serão utilizados animais com glicemia pós-prandial entre 250 a 350 mg/Kg. Os animais diabéticos Tipo 2 serão obtidos segundo Bonner-Weir (1981), pela administração intraperitoneal de STZ em tampão citrato 0,1M em ratos com 2 dias de vida. Os animais serão utilizados a partir do 42º dia de vida nos experimentos subcrônicos e no 45º dia nos experimentos agudos. O efeito do extrato nos animais diabéticos serão comparados aos efeitos da insulina (s.c) nos animais diabéticos tipo 1 e dos antidiabéticos orais nos animais diabéticos tipo 2. A administração da insulina será realizada uma vez ao dia, 3U/rato (s.c).

A.2. Avaliação subcrônica – Na avaliação subcrônica em animais diabéticos Tipo 1, o extrato (ou veículo – grupo controle), será administrado por gavagem durante 22 dias, com determinação dos seguintes parâmetros: peso corporal, água e alimento ingerido, volume urinário, glicose, colesterol e triglicerídeos séricos, glicose e uréia urinária, peso dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal, músculos soleus e gastrocnemius, lipídeos totais e glicogênio hepático. Para determinação da glicose plasmática, uréia urinária e lipídeos será utilizado Kit da Labtest. A determinação da glicose urinária será realizada utilizando o reagente dinitrossalicílico. A extração de lipídeos do fígado será feito pelo método de Folch (1957) e determinado por método gravimétrico. A determinação do glicogênio hepático será realizada utilizando reagente de fenol. Nos animais diabéticos Tipo 2, serão avaliados apenas a variação do peso corporal e a glicemia pós-prandial.

A.3. Efeito sobre a glicemia de jejum – Após determinação da glicemia de animais diabéticos e normais em jejum prévio de 12-14 h, será administrado o extrato ou veículo. De 20 em 20 minutos amostras de sangue serão coletadas para dosagem da glicose plasmática até pelo menos 5 coletas, se prolongando até o tempo necessário quando for constatado efeito hipoglicêmico.

A.4. Teste de tolerância à glicose - Efeito sobre a resposta glicêmica à administração de glicose. Após jejum de 12-14h, serão coletadas amostras de sangue para determinação da glicose sérica. Em seguida os animais receberão uma carga de glicose (2g/Kg) e o extrato (ou veículo). De 20 em 20 minutos amostras de sangue serão coletadas para dosagem da glicose plasmática até 100 minutos após a administração do extrato.

B. Modo de ação

Constatada atividade antidiabética, prosseguiremos a investigação, no sentido de esclarecer os possíveis mecanismos responsáveis por este efeito.

B.1. Efeito sobre a secreção de insulina - Embora as duas formas de Diabetes mellitus (tipo 1 e 2) tenham diferentes etiologias, apresentam como característica comum um declínio progressivo da secreção de insulina estimulada pela glicose. No diabetes tipo 2, além da deterioração da capacidade funcional das ilhotas pancreáticas ocorre resistência periférica à insulina. Modelos animais das duas formas da doença têm mostrado que a perda da capacidade secretória é acompanhada pela inabilidade das células da ilhota transportarem e metabolizarem a glicose devido ao declínio da expressão do GLUT 4 da glicoquinase e da hexoquinase, devido, em parte, a redução da expressão do RNA mensageiro dessas proteínas e/ou alteração da atividade dessas enzimas. O possível efeito da planta sobre a secreção de insulina será avaliado *in vivo* e *in vitro*. A determinação da concentração de insulina será realizada por radioimunoensaio.

- **Avaliação *in vivo*** – Serão verificados os efeitos das substâncias anti-diabetogênicas presentes nas espécies estudadas sobre o pâncreas endócrino, avaliando a secreção de insulina *in vivo* pela estimativa da área sob a curva da glicemia e insulinemia após teste de teste de tolerância à glicose oral (Matthews et al. 1990).



- **Avaliação *in vitro*** - A capacidade funcional das ilhotas isoladas (Boschero et al. 1996) será avaliada pela medida da secreção estática de insulina em resposta a diferentes concentrações de glicose após incubação por 90 min (efeito agudo) ou cultura por 3 dias (efeito crônico) com essas substâncias.

B.2 Efeito a nível periférico

- **Sensibilidade periférica à insulina** - A sensibilidade periférica à insulina será avaliada pelo cálculo da constante de desaparecimento da glicose no soro durante teste de tolerância à insulina (K_{itt}) (Lundbäck 1962).

- **Efeito sobre a neoglicogenese** - A neoglicogênese será avaliada pela medida da atividade da PEPCK na fração citosólica, utilizando $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ medindo a incorporação de ^{14}C em malato pelo método de CHANG & LANE (1966) e a expressão da PEPCK por RT-PCR.

- **Utilização de glicose *in vivo*** - Será avaliada pela administração da $2\text{-}^{14}\text{C}$ - deoxiglicose e medida o acúmulo de $2\text{-}^{14}\text{C}$ deoxiglicose 6 fosfato no músculo e tecido adiposo e a expressão do RNA mensageiro e da proteína GLUT 4 por RT-PCR e Western Blotting, respectivamente (Arantes et al. 2002).

B.3 Efeito a nível intestinal - Inibição da alfa glicosidase - A determinação do efeito inibitório do extrato e das frações sobre a atividade da alfa glicosidase, será realizada segundo Molineux (1993), que se baseia na hidrólise do substrato p-nitrofenila-alfa-D-glicopiranosídeo.

4.2.10. Estudos Farmacológicos Gerais

A. Tempo de sono barbitúrico

O método empregado será o de DANDIYA & COLLUMBINE (1959). Serão utilizados camundongos machos, pesando entre 22 a 27 g, distribuídos em grupos de 8 animais. Cada grupo receberá por via oral, veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada. Decorridos 60 min, todos os animais receberão uma injeção de pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) como agente indutor de sono. O tempo entre a injeção do anestésico e a perda do reflexo postural e o tempo entre este último e a recuperação do sono serão tomados como a latência e o tempo de sono, respectivamente. As médias da latência e tempo de sono \pm erro padrão de cada grupo serão comparados com as médias do grupo controle.

B. Teste do desempenho motor (Rota-Rod)

Com o intuito de verificar possíveis efeitos relaxantes musculares não específicos ou sedativos do extrato, subextratos ou frações da planta selecionada sobre o SNC, os animais terão seu desempenho motor avaliado no teste do Rota-Rod (ROSLAND et al., 1990; BLATT & TAKAHASHI, 1998). O aparelho de Rota-Rod consiste de um cilindro com 2,5 cm de diâmetro, subdividido em seis compartimentos por discos de 25 cm de diâmetro. O cilindro gira a uma velocidade constante que pode ser definida pelo pesquisador. No caso deste teste foi definida a velocidade de 7 r.p.m. Os camundongos serão selecionados com 24 h de antecedência para eliminar aqueles que não permaneciam sobre a barra durante dois períodos consecutivos de 60 s. Serão utilizados camundongos machos, pesando entre 21 a 26 g, divididos em grupos de 8 animais. Os animais serão tratados oralmente com veículo, extrato (3 doses), subextrato ou frações da planta selecionada, 60 min antes de serem submetidos ao teste. O resultado será expresso como o tempo, em segundos (s) em que os animais permaneceram sobre o aparelho. O tempo máximo utilizado por questões éticas será de 120 s.

C. Pressão arterial média



Ratos machos, pesando entre 300 a 310 g, serão separados em grupos de 6 a 8 animais, anestesiados com de pentobarbital sódico (35 mg/kg, i.p.) e hidrato de cloral (200 mg/kg, i.p.). Após anestesia, será feita a dissecação da artéria femoral esquerda do animal para implante de uma cânula de polietileno 10 (PE-10 - diâmetro externo de 0,61 mm) soldada a uma outra cânula de 15 cm de polietileno 90 (PE-90 - diâmetro externo de 1,55 mm), contendo 500 U.I./mL de heparina em salina 0,9 %, através da qual será efetuado o registro direto da pressão arterial média (PAM). Em seguida, a extremidade do tubo de PE-10 será introduzida na artéria femoral esquerda até a aorta abdominal e a de PE-90 passada subcutâneamente, emergindo dorsalmente à altura da nuca do animal, onde fora fixado. Após o procedimento cirúrgico serão acondicionados em gaiolas apropriadas individuais, onde permanecerão em recuperação por dois dias antes da realização dos experimentos e que servirão também em câmaras para registro da PAM. Após esse tempo, a PAM basal de cada animal será registrada por 10 min e, em seguida, os animais serão tratados com veículo, extrato (3 doses), subextratos ou frações da planta selecionada, sendo a PAM de cada rato registrada nos últimos 15 min de cada hora, por 4 h consecutivas, através de um transdutor de pressão arterial acoplado a um polígrafo.

4.2.11. Processamento das Amostras para Análise Microscópica

Os três estágios de processamento (desidratação, clarificação e infiltração) serão realizados manualmente com tempo de processamento de 24 h seguindo protocolo de PROPHET (1992). Posteriormente, o material será embebido em parafina histológica (temperatura de fusão 56-58 °C) em formas de Leucart® (HALL, 1962). As amostras serão cortadas em micrótomo universal com 5 µm de espessura e colocadas em lâminas histológicas fixadas com albumina, obtendo-se no mínimo 3 lâminas por amostra (HUMASON, 1972). Em seguida, uma lâmina de cada amostra será corada com hematoxilina e eosina (ALLEN, 1992). A segunda lâmina de cada amostra será corada para visualização de tecido conectivo usando-se a técnica tricômio de Masson (McELROY, 1992). Outra lâmina histológica com amostra de material será guardada para colorações especiais que se fizerem necessário. As alterações microscópicas degenerativas e inflamatórias foram enumeradas de acordo com o exsudato, a intensidade, a distribuição e a evolução, sendo classificadas morfológicamente seguindo padrão dermatopatológico rotineiro para avaliação do avanço epitelial, vascularidade, infiltração de células inflamatórias, densidade de fibroblastos/ miofibroblastos e conteúdo total de colágeno (JUBB et al., 1993). Cortes microscópicos representativos de cada grupo de estudo serão ampliados por 10, usando-se um ampliador microfotográfico e um traçado será obtido para cada secção (CROSS et al., 1995).

4.2.12. Análises Estatísticas

Os resultados dos testes paramétricos envolvendo variáveis contínuas serão expressos em termos de média \pm erro padrão da média ($X \pm EPM$). Para comparação múltipla dos dados paramétricos será utilizada a análise de variância uma via (ANOVA, um fator como variável independente) e em havendo significância estatística procederá-se com o pós-teste de Student-Newman-Keuls ou teste "t" de Student. Quando a comparação de dados paramétricos pareados envolver apenas duas médias, será empregado o teste "t" de Student, bicaudal (STUDENT, 1908). Para a comparação múltipla de dados não paramétricos (variáveis qualitativas nominais) será usado a mediana (Q_1 , Q_3), onde Q_1 e Q_3 referem-se ao 1º e 3º quartis, respectivamente (SIEGEL, 1979). Para comparação de mais de duas medianas, será empregado ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis. Havendo diferença estatística, o pós-teste de comparação múltipla de Dunn será utilizado (KRUSKAL, 1952). Para a análise estatística será utilizado o software Grahpad Instat, versão 2.01 (CIPOLLA NETO, 1993).

4.2.13 Análise Química Preliminar

Os extratos brutos serão submetidos a processos de extração, resultando em três frações de características ácida, básica e neutra. A seguir, serão efetuados uma série de ensaios por via



úmida, resultando em formação de complexos coloridos ou precipitados, indicativos da presença de classes de metabólitos secundários presentes nas espécies (MATOS, 1997).

4.2.14 Fracionamento Cromatográfico

O fracionamento cromatográfico será efetuado por técnicas de extração por solventes, extração ácido-base e técnicas cromatográficas (cromatografia em coluna, em placa preparativa, radial preparativa, de média pressão, líquida de alta eficiência e líquida em contra-corrente. Caso necessário, serão preparados derivados dos compostos, através de reações de acetilação, metilação, siliilação e etc. para facilitar o isolamento (HARBORNE, 1988; UGAZ, 1994; MARCH, 1992).

4.2.15 Elucidação Estrutural

As substâncias isoladas terão sua estrutura elucidada por meio de técnicas espectrométricas convencionais [RMN ^1H e ^{13}C ; FT-IV; EM; UV (PAVIA et al, 1979; WILLIAMS & FLEMING, 1987; DEROME, 1991; NAKNISHI, 1990; YODER & SCHAEFER, 1987; ABRAHAN et al, 1991; BREITMAIER, 1993; KEMP, 1986)].

4.2.16 Estudo da Propagação *In Vivo* da Espécie Seleccionada

Com a finalidade de avaliação do enraizamento *in vivo* de estacas o experimento será conduzido em casa de vegetação, vinculado ao Laboratório de Biociências da Universidade Católica Dom Bosco, utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com cinco repetições, em que cada parcela será constituída por quatro estacas, com 10 e 20 cm de comprimento, as quais serão tratadas com 0,80 ou 160 mg/l de fitorregulador ácido indol butirico (AIB), por duas horas, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x2, definidos pelas combinações dos fatores: comprimento da estaca (10 e 20 cm), soluções de AIB (0, 80 ou 160 mg/l). As plantas serão mantidas em casa de vegetação em sacos plásticos com substrato vegetal. As estacas serão coletadas da região mediana de plantas matrizes com um ano de idade, sendo que as estacas com 10 cm de comprimento com uma gema e as de 20cm duas gemas. Os dois tipos de estacas serão colocados, durante 2 horas, em solução de AIB (0; 80; 160 mg/l), exceto as estacas controle (0) que serão colocadas diretamente no substrato. O pH das soluções será ajustado para 5,8. Após a imersão nas soluções, as estacas serão colocadas em saco de polietileno, com capacidade para 500ml, contendo como substrato areia lavada, mantidas sob sombrite, com redução de luz em 50% e irrigação uma vez ao dia. Serão avaliados aos 45 dias após a instalação do experimento: o número, comprimento e peso da matéria seca de raízes e parte aérea. As análises de variância dos dados obtidos serão realizados de acordo com esquema para os experimentos fatoriais, e as comparações de médias dos tratamentos, serão feitas usando-se o teste de Tukey (5%).

4.2.17 Determinação do Processo de Germinação de Sementes da Espécie Seleccionada e Cultivo em Campo.

Na primeira fase do projeto, serão anotados dados de ocorrência e distribuição e características reprodutivas sobre espécimes da espécie seleccionada. Para isso, será adotado um sistema de planilha contendo itens como: data, localização geográfica, vegetação local, características de solo, tamanho da planta, coloração das flores e folhas, presença de folhas, flores e frutos, aspecto geral da planta, diâmetro do caule, etc. A coleta de dados geográficos será feita usando-se um aparelho GPS (Global Positioning System). Estes dados possibilitarão o levantamento e a caracterização dos ecótipos encontrados na área de estudo. Serão também coletadas sementes, em vários estágios de desenvolvimento, e partes vegetativas como raízes e galhos verdes, com o propósito de estudar estas estruturas na propagação assexuada da planta. Estes materiais serão identificados, transportados em condições adequadas e



acondicionados em local favorável. Todos os dados coletados serão digitalizados em um banco de dados interno que será criado em computador para armazenar e correlacionar os dados obtidos com resultados das fases posteriores. Na segunda fase do projeto, testes de germinação padrão e vigor serão feitos adaptando-se a metodologia de outras espécies para a espécie em estudo. Para isso, serão seguidas as normas técnicas da ISTA (1995) e AOSA (1983). Os testes de vigor serão: emergência, velocidade de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas; peso úmido e seco de raízes e parte aérea de plântulas; número de brotações; tamanho de plântulas; diâmetro de raízes; número de raízes; etc. Técnicas de propagação e formação de mudas serão os citados por LUNA (1991), HENRIQUES (1995), BIANCHETTI et al. (1998), SARTORIO et al. (2000), CHAVES (2000) e CESP (2000), porém adaptados para a espécie e condições locais onde o estudo será conduzido. Os seguintes parâmetros serão também considerados: temperatura e umidade da casa de vegetação, diferentes tipos de substrato, frequência de irrigação, quantidade de água aplicada por turno de rega, recipiente utilizado para formar as mudas, etc. Para todos os testes utilizados nesse projeto, e de acordo com as condições experimentais, serão adotados os delineamentos inteiramente ao acaso, em blocos e fatorial. Para a análise dos dados (ANOVA, comparação de medias, correlação, etc.) será usado o programa estatístico JMP, versão 4.0.4 (Acadêmica). Os resultados, após análises, serão usados na decisão de quais formas de propagação e formação mudas da espécie são mais viáveis. Na terceira fase do projeto, as formas de propagação e formação de mudas escolhidas serão testadas e validadas por famílias de agricultores assentados e pequenas propriedades rurais através de medições simples como emergência, número de brotações, tamanho de plântulas, diâmetro de raízes, e número de raízes, entre outras. Toda essa fase será acompanhada por famílias e responsáveis pelo projeto, adotando-se para tal a metodologia do diagnóstico rural participativo de agroecossistemas desenvolvido por pesquisadores da Embrapa Pantanal. O desempenho das mudas será avaliado por medições que serão então comparadas com medições da segunda fase. Para isso, serão adotadas comparações de medias, como a exemplo Tukey 5%, levando-se em conta a influencia ambiental, a qual seria minimizada em condições de casa de vegetação.



5. Resultados Esperados

- Consolidação da Rede Pantaneira de Bioprospecção, no âmbito do CPP;
- Capacitação de recursos humanos em níveis de Iniciação Científica e Mestrado;
- Validação pré-clínica da atividade antiinflamatória e antidiabética da planta selecionada;
- Identificação dos subextratos e frações com atividade antiinflamatória e antidiabética;
- Isolamento e elucidação estrutural dos compostos com potencial atividade antiinflamatória e antidiabética;
- Patenteamento dos resultados da pesquisa;
- Após registro da patente, publicação dos resultados da pesquisa em periódicos indexados.

6. Mecanismos de Transferência de Resultados

Uma vez detectados resultados farmacológicos e toxicológicos satisfatórios e solicitado o registro de patente, buscar-se-á parceria com uma empresa consolidada e financeiramente sólida, para a realização dos ensaios clínicos, estudos farmacotécnicos e mercadológicos e a inserção do produto no mercado. Serão também estudados buscados mecanismos de inclusão social das comunidades carentes do Pantanal, desde que se consiga obter métodos simples e baratos para efetuar o cultivo e a propagação da espécie selecionada.

7. Impactos

- Econômicos: possível criação de uma droga fitoterápica, podendo gerar emprego e renda;
- Científicos: possível produção de uma patente e de diversas publicações, contribuindo para o avanço do conhecimento na área. Formação de recursos humanos em níveis de iniciação científica e mestrado, contribuindo para a superação das desigualdades regionais em C&T no país;
- Sociais: possível geração de emprego e renda na indústria de fitoterápicos e na agricultura familiar (cultivo da espécie selecionada, fornecendo matéria prima para a indústria);
- Ambientais: possível contribuição para a conservação da espécie através das técnicas de cultivo e propagação a serem estudadas e da valorização pela comunidade, que verá na espécie selecionada uma oportunidade de trabalho e melhoria das condições de vida (uso sustentável da espécie).

8. Equipe

Nome	CPF	Título	Instituição (país/ano)	Área	Instituição atual	Função	Atuação
Evandro L. Dall'Oglio	589.765.079-91	DSc	UFSC (BR; 2002)	Química orgânica	UFMT	Coordenador	Coordenação geral; Análises Espectrométricas/Determinação estrutural
Paulo T. de Sousa Jr	150811331-91	PhD	UEA (R.U.;1993)	Química orgânica	UFMT	Colaborador	Análises Espectrométricas/Determinação estrutural
A indicar		DSc		Química orgânica	UFMT- Bolsista	Colaborador	Análises Espectrométricas/Determinação estrutural
A indicar		MSc			UFMT- Bolsista	Colaborador	Fracionamento cromatográfico;
Domingos Tabajara de Oliveira Martins	109.726.923-04	DSc	UNIFESP (BR; 1990)	Farmacologia	UFMT	Colaborador farmacologia	Ensaio farmacológicos
Germano Guarim Neto		DSc	INPA	Botânica	UFMT	Colaborador botânica	Ratificação taxonômica
Regilane Matos da Silva	674.012.603-87	DSc	UFCE	Farmacologia	UFMT - Bolsista	Colaborador farmacologia	Ensaio farmacológicos
Marçal Henrique Amici Jorge	167946548-14	PhD	University of Arizona (USA)	Plant Science	Embrapa	Colaborador	Domesticação e Cultivo
Joaquim Corsino da Silva Lima	148.059.011-87	MSc	UFMT/	Saúde e Ambiente - Farmacologia	UFMT	Colaborador	Farmacologia
Neyres Zínia Taveira de Jesus	469.179.851-04	Mes-tranda		Farmacologia	UFMT	Colaboradora	Mestranda em Farmacologia
Pedro Américo de	727.421.861-15	Gra-duando		Medicina	UFMT	Colaborador	Bolsista de IC -Farmacologia

Campos Souza							
Bennaci Dias Pereira	284.689.291-15	Téc.		Botânica	UFMT	Colaborador	Técnico em Histologia/Farmacologia
Libério Amorim Neto	103.465.891-34	Técnico		Botânica	UFMT	Colaborador	Técnico em Botânica
Vanildes Frageri		Técnica		Química	UFMT	Colaboradora	Técnica Química
Marcia Queiroz Latorraca	32570660159	Dr	UNICAMP - 1998	C. da Saúde/ Bioquímica da nutrição	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Maria Helena Gaiva	22958533115	Dr	UNIFESP 1999	C. da Saúde/ Bioquímica da nutrição	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Marise Auxiliadora de Barros Reis	2507910801	Dr.	UNICAMP 2004	C. biológicas/ Fisiologia endócrina	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Vanessa Cristina Alves	79036538149	Ms	UNICAMP 2002	C.Biologicas - Fisiologia	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Maria Salete Ferreira Martins	10245294449	Ms	UFPE 1988	C.biologicas/ nutrição	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Roberto Vilella Cardoso	19806710100	Ms	UFMT 1998	C. da Saude – Gast./nutrição	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico Avaliação antidiabética
Ms. Carbene França Lopes	5672198104	Ms	UFC-1980	Bioquímica/enzi mologia	UFMT	Colaboradora	Ensaio farmacológico
Nair Honda Kawashita	44481390930	Dr.	USP- FMRP- 2000	Bioquímica/ metabolismo	UFMT	Colaboradora	Avaliação antidiabética
Marlene Mariano					UFMT	Tecnico	Técnico em química

9. Cronograma de Execução

ETAPAS	2005		2006				2007			
	1	2	1	2	3	4	1	2	3	4
	Revisão Bibliográfica	X								
Coleta e identificação do material botânico	X	X								
Preparo dos extratos		X								
Treinamento em técnicas de imunoensaio		X								
Testes farmacológicos com os extratos		X	X	X	X					
Divulgação dos resultados				X				X		
Relatório parcial				X				X		
Treinamento em técnicas de radioimunoensaio				X						
Padronização dos extratos selecionados						X	X			
Fracionamento cromatográfico dos extratos ativos			X	X	X	X	X	X		
Testes farmacológicos com as frações				X	X	X	X	X		
Isolamento e elucidação estrutural					X	X	X	X		
Reuniões da rede				X				X		
Estudos agronômicos (cultivo e propagação)				X	X	X	X	X		
Relatório Final								X		



10. Orçamento

Orçamento de Custeio	Total (R\$)
Diárias	29.250,00
Material de Consumo	74.750,00
Passagens e Despesas com locomoção	37.500,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Física	90.000,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Jurídica	45.000,00
Sub-total	276.500,00
Orçamento de Capital¹	
Equipamentos e Material Permanente (R\$)	140.000,00
Sub-total	140.000,00
Total Geral (Capital + Custeio)	416.500,00

11. Cronograma de Desembolso

Orçamento de Custeio (R\$)	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Total
Diárias	9.750,00	9.750,00	9.750,00	29.250,00
Material de Consumo	36.750,00	15.250,00	22.750,00	74.750,00
Passagens e Despesas com locomoção	12.500,00	12.500,00	12.500,00	37.500,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Física	30.000,00	30.000,00	30.000,00	90.000,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Jurídica	15.000,00	15.000,00	15.000,00	45.000,00
Total:	104.000,0	82.500,00	90.000,00	276.500,00
Orçamento de Capital (R\$)				
Equipamentos e Material Permanente	140.000,00	0,00	0,00	140.000,00

¹ Os recursos de capital serão financiados através convênio com a FUNDECT

12. Referências

ABRAHMAN, R. J.; FISHER, J.; LOFTUS, P. *Introducion to NMR Spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons, 1991.

ALLEN, TC, Hematoxylin and eosin In: PROPHET, EB, MILLS, B., ARRINGTON, BJ, SOBIN, HL., Laboratory methods in Histotechnology. AFIP: Washington. P. 274, 1992.

ALMEIDA, SP; PROENÇA, CB; SANO, SM; RIBEIRO, JF. Cerrado, espécies vegetais úteis. Embrapa, Planaltina – DF, p. 464, 1998.

ANDRADE, ACS; LOUREIRO, MB; SOUZA, ADO; RAMOS, FN. Quebra de Dormência de Sementes de Sucupira-Preta. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira. V. 32, Nº 05, 1997.

AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS. *Seed vigor testing handbook*. Leaning: 1983. 88p. (Contribution, 32).

Arantes, V.C; Teixeira, V.P; Reis M.A; Latorraca, M.Q; Leite, A.R; Carneiro, E. M; Yamada, A.T.; Boschero. A. C. Expression of PDX-1 is reduced in pancreatic islets from pups of rat dams fed a low protein diet during gestation and lactation. **J Nutr.** ,132(10):3030-5, 2002.

[ARRIAGA AM](#), [GOMES GA](#), [BRAZ-FILHO R](#). Constituents of *Bowdichia virgilioides*. Fitoterapia. V. 71(2):211-2, 2000.

[BARBOSA-FILHO JM](#), [DA SILVA ALMEIDA JR](#), [DE OLIVEIRA COSTA VC](#), [DA-CUNHA EV](#), [DA SILVA MS](#), [BRAZ-FILHO R](#). Bowdichine, a new diaza-adamantane alkaloid from *Bowdichia virgilioides*. J Asian Nat Prod Res. V. 6(1):11-7, 2004.

BARROS, WM; DTO, MARTINS. Avaliação da atividade antireumática de *Bowdichia virgilioides* H.B.K. (FABACEAE). In: XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Recife – PE, 2000.

BATALHA, MA; MARTINS, FR. Reproductive phenology of the cerrado plant community in Emas National Park (central Brazil). Australian Journal of Botany. V. 52, Nº 2, P. 149 – 161, 1998.

BIANCHETTI, A.; ROSSI, L. M. B.; TEIXEIRA, C. A. D.; MARTINS, E. P. *Produção de mudas de espécies florestais*. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1998. 24p. (EMBRAPA-CPAF Rondônia. Circular Técnica, 34.).

BLATT, S. L. & TAKAHASHI, R. N. Memória danificando efeitos de anestésicos locais em um mais-plus-maze elevated teste nos ratos. Brazilian Journal of Medical and Biological Reserch, v. 31 (4): p. 555-559, 1998.

Bonner-Weir, S.; Trent, R. N.; Honey, R.N.;Weir, G.C. Responses of neonatal rat islets to streptozotocin. **Diabetes**, 30: 64-69,1981.

Boschero, A.C. Acoplamento da estimulação-secreção de insulina pelas células β pancreáticas. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.**,40, 149-155, 1996.

BRAUWERS, L.R., DE CAMARGO, I.P. (IN MEMORIAM), DURAN, J.A.R., MARTINOTTO, C. Efeito de Substratos e da Adubação Fosfatada sobre o Desenvolvimento de Mudanças de Paratudo (*Tabebuia caraiba* (Mart.) Bur.) e Sucupira preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K.). Latin-American Symposium on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plants. ISHS Acta Horticulturae 569. (www.actahort.org/members/showpdf?booknr=569_26)

BREITMAIER, E.. *Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry – A Practical Guide*. Chichester : John Wiley & Sons, 1993.

BUCK, S. H; BURKS, T. F. The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. *Pharmacol Rev.* v.38: 179-226, 1986.

CALIXTO JB, PIZZOLATTI MG, YUNES RA. The competitive antagonistic effect of compounds from *Mandevilla velutina* on kinin-induced contractions of rat uterus and guinea-pig ileum in vitro. *Br J Pharmacol.* V. 94, nº 4, p. 1133-42, 1988.

CALLE, AJ; RIVERA UMANA, A; MORENO, E. Isolation of lupeol from the bark of *Bowdichia virgilioides* H.B.K. *Rev. Colom. Cienc. Quim. Farm.* V. 4, p. 93-94, 1983.

Chang, H; Lane, M.D. The enzymatic carboxylation of phosphoenolpyruvate. II. Purification and properties of liver mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J. Biol. Chem.*, 241, 2413-2420, 1966

CHAN, P. K. OHARA, G. P. HAYES, A. W. Principles and methods for acute and subchronic toxicity. In: HAYES, A.W. - Principles and methods of toxicology. Ed. New York, Raven Press. p.1-51, 1982.

CHAVES, J. C. M.; CAVALCANTI JUNIOR, A. T. C.; CORREIA, D.; SOUZA, F. X. de; ARAÚJO, C. A. T. *Normas de produção de mudas*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 37p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 41).

CESP - COMPANHIA ENERGÉTICA DE SÃO PAULO (São Paulo, SP). *Manual de produção de mudas de essências florestais nativas*. São Paulo, 2000. 55p., anexos. (CESP. Série Divulgação e Informação, 244).

CIPOLLA-NETO; GRAPHPAD InStat tm. Copyright © GraphPad Software. V 2.01., Univ. of São Paulo. 930675S. [Programa de computador]; 1990-1993.

DANDIYA, P. C. & COLLUMBINE, H. Studies on Aereous calamus. II -some pharmacological action of the volatile oil. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 125: 353-359, 1959.

DE LA CRUZ-MOTA, GF. Plantas medicinais utilizadas por raizeiros, uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e da doença. Dissertação para obtenção de título de mestre em Saúde e Ambiente. Instituto de Saúde Coletiva – UFMT, p. 103, 1998.

[DEHARO E](#), [BOURDY G](#), [QUENEVO C](#), [MUNOZ V](#), [RUIZ G](#), [SAUVAIN M](#). A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *J Ethnopharmacol.* V. 77(1):91-8, 2001.

DEROME, A.. *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*. Oxford: Pergamon Press, 1991.

DESMARCHELIER C, ROMAO RL, COUSSIO J, CICCIA G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol*. V. 67, N° 1, :69-77, 1999.

DOMINGUES, JR; FOGLIO, MA; CARVALHO, JE. Atividade antiedematogênica e isolamento dos princípios ativos do óleo se Sucupira (*Bowdichia* sp.). In: XIV Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental, Caxambu-MG, 1999.

EDDY, N. B., & LEIMBACH, D. Synthetic analgesic II. Dithienylbutenyl and dithienylbutyl-amines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 107: 385-393, 1959.

FLORIANO, EP. Germinação e dormência de sementes florestais, caderno didático 2, 1ª ed. Santa Rosa, 2004.

Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem*. 226: 497-509, 1957.

FRANCESCHINI, M.C. Fases florales, nectario y visitantes en *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D. Penn. (Sapotaceae), www.unne.edu.ar/cyt/2002/06-Biologicas/B-014.pdf.

GONÇALVES, MIA; MARTINS, DTO. Plantas medicinais usadas pela população de Mato Grosso do município de Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso, Brasil. *Ver. Bras. Farm*. 79 (3/4): 56-61, 1998.

GREEN LC, WAGNER DA, GLOGOWSKI J, SKIPPER PL, WISHNOK JS, TANNENBAUM SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. V. 126, n° 1, P. 131-8, 1982.

[HABASHY RR](#), [ABDEL-NAIM AB](#), [KHALIFA AE](#), [AL-AZIZI MM](#). Anti-inflammatory effects of jojoba liquid wax in experimental models. *Pharmacol Res*. V. 51, n° 2, P. 95-105, 2005.

HARBORNE, J.B.. *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall: London, 1988.

HENRIQUES, H. J. de A. *Viveiro para produção de mudas de essências florestais, frutíferas, ornamentais e medicinais – modelo multiuso 252/130: manual de construção*. Brasília: DENACOOP, 1995. 99p.il. (PNUD BRA 92/011). Projeto Novas Fronteiras do Cooperativismo – PNFC.

HUMASON, G.L. *Animal Tissue Techniques*. 3 ed. San Francisco: WH Freeman. P. 641, 1972.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of Neuroscience and Methods*, 14: 69-76, 1985.

JOHNS, T.. *The Origins of Human Diet & Medicine*. Tucson: The University of Arizona Press, 1996.

JOLLY, AB. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 12^a ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional, p. 777, 1998.

KEMP, J.. *NMR in Chemistry: A Multinuclear Introduction*. London: Macmillan Education LTD, 1986.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, 18: 412-414, 1959.

KRUSKAL, W. H. A nonparametric test for the several sample problem. *Ann. Math. Statist.*, 23: 525-540, 1952.

LEÔNICIO, MP; SANTOS, RVH; ANJOS, FBR; AFIALPOUR, P; LIMA, CSA. Efeito do extrato hidroalcoólico da *Bowdichia virgilioides* Kunth. Sobre a glicemia de ratas diabéticas. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Resumos, Fortaleza – CE, 1994.

LI YM, BAVIELLO G, VLASSARA H, MITSUHASHI T. Glycation products in aged thioglycollate medium enhance the elicitation of peritoneal macrophages. *J Immunol Methods*. V. 28, nº 201, P.183-8, 1997.

LIMA, EO; OLIVEIRA, NMC; GOMES, STA; MORAIS, VMF. Atividade antifúngica in vitro de óleos essenciais contra o gênero *Tri-Chophyton*. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Resumos, Fortaleza – CE, 1994.

LOCATELLI, EM; MACHADO, IC. Fenologia de espécies arbóreas de uma Mata Serrana (Brejo dos Cavalos) em Pernambuco, Nordeste do Brasil. In: K.C. Pôrto; Cabral, J.J. & Tabarelli, M.. (Org.). *Brejos de Altitude: História Natural, Ecologia e Conservação*. Brasília. V. 1, p. 255-276, 2004.

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras – Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Ed. Nova Odessa, 1998.

LUNA, J. V. U. *Produção de mudas frutíferas tropicais*. Salvador, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S. A. – EBDA, 1991, 77p. (EBDA. Circular técnica, 01), Salvador-BA.

Lundbaek, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. *Br Med J*. Jun 2;5291:1507-13, 1962

MALONE, M. H. The pharmacological evaluation of natural products general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. *J. Ethnopharmacol.*, 8: 127-147, 1983.

MARCH, J.. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*. New York: John Wiley & Sons, 1992.

MARINHO, LC; CUNHA, MTMC; THOMAS, G; BARBOSA-FILHO, JM. *Fitoterapia*. V. 65, Nº 5, p. 475, 1994.

[MARZOCCO S](#), [DI PAOLA R](#), [SERRAINO I](#), [SORRENTINO R](#), [MELI R](#), [MATTACERASO G](#), [CUZZOCREA S](#), [PINTO A](#), [AUTORE G](#). Effect of methylguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in the rats. *Eur J Pharmacol*. V. 26, Nº 484, P. 341-50, 2004.

Matthews, J. N.; Altman, D. G.; Campbell. M. J. and Royston, P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br.Med. J*. v.300, 230-235, 1990.

MATOS, F.J.. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2^a ed. Fortaleza: EUFC, 1997.

McELROY, D. A. Connective Tissue In: PROPHET, EB, MILLS, B., ARRINGTON, BJ, SOBIN, HL., Laboratory methods in Histotechnology. AFIP: Washington p. 25-29, 1992.

MEDEIROS, YS; CALIXTO, JB. Analysis of the mechanisms underlying the biphasic responses to bradykinin in circular muscle from guinea pig ileum. [European Journal of Pharmacology. V. 241](#), P. 157-163, 1993.

MEYER, B. N.; FERRIGINI, N. R.; PUTNAM, J .E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MACLAUGHLIN, J. L.; BRINE SHRIMP: Aconvenient General Biossay for active plant constituents; *Planta médica.*, vol, 45: pp.31-34, 1982.

MILLER, L. C. L. & TAINTER, M. L. Estimation of the ED₅₀ and it's error by means of logarithmic probit graph paper. *Proc. Soc. Exp. Med.*, v. 57: p. 261-264, 1944.

MILLIKEN, W.; ALBERT, B., GOMEZ, G.G.. *Yanomani: A Forest People*. Stockbridge: B.A.S. Printers Ltd., 1999.

MILLIKEN, W.; MILLER, R.P.; POLLARD, S.R.; WANDELLI, E.V.. *Ethnobotany of the Waimiri Atoari Indians of Brazil*. Whitstable: Whitstabel Litho, 1992.

MOESLINGER T, FRIEDL R, VOLF I, BRUNNER M, KOLLER E, SPIECKERMANN PG. Inhibition of inducible nitric oxide synthesis by the herbal preparation Padma 28 in macrophage cell line. *Can J Physiol Pharmacol*. V. 78, nº 11, P. 861-6, 2000.

MOLINEUX, R.J. In: Watermen, P.G. *Methods in plant biochemistry: Alkaloids and sulfur compounds*. London:Academic Press. P.511-530, 1993.

MORONEY MA, ALCARAZ MJ, FORDER RA, CAREY F, HOULT JR. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J Pharm Pharmacol*. V. 40, nº 11, P. 787-92, 1988.

NAKANISHI, K.. (ed), *One. Dimensional and Two. Dimensional NMR Spectra by Modern Pulse Techiniques*. Mil Valley: University Science Books, 1990.

NEWBOULD, B. B. Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *Brit. J. Pharmacol.*, 21: 127-136, 1963.

NIPPON, Y. Z. (author's transl) Tanabe K.. Studies on brewer's yeast (I). Pyretic action, 73 (7):803-22, Oct; 1977.

PAULINO DE ALBUQUERQUE, Ulysses y DE HOLANDA CAVALCANTI ANDRADE, Laise. USO DE RECURSOS VEGETAIS DA CAATINGA: O CASO DO AGRESTE DO ESTADO DE PERNAMBUCO (NORDESTE DO BRASIL). INCI. [online]. jul. 2002, vol.27, no.7 [citado 17 Julio 2005], p.336-346. Disponible en la World Wide Web: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-

PAVIA, D. L.. LAPMAN, G. M.; KRIZ JR., G. S. *Introduction to Spectroscopy*. Philadelphia: Saundes College Publishing, 1979.

PICK E, KEISARI Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages--induction by multiple nonphagocytic stimuli. *Cell Immunol.* V. 59, nº 2, P. 301-18, 1981.

POTT, A.; POTT, V.J. *Plantas do Pantanal*. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal – Corumbá, MS, 1994.

PROPHET, E.B. Tissue processing: dehydration, clearing and infiltration. In: PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. SOBIN, H.L. *Laboratory methods in Histotechnology*. AFIP: Washington p. 29-32, 1992.

RICHTER, H. G.; DALLWITZ, M. J (2000 onwards). Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, and Spanish. Version: 4th May 2000. <http://biodiversity.uno.edu/delta/>.

RIZZINI, CT; MORS, WB. *Botânica Econômica Brasileira*. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 248p., 164-165, 1998.

ROSLAND, J. H.; HUNSKAAR, S.; HOLE, K. Diazepam attenuates morphine antinociceptive test dependently in mice. *Pharmacol. Toxicol.*, 66: p 382-386, 1990.

SANGUINETTI, EE. *Plantas que curam*. 2 ed. Editora Rangel, Porto Alegre – RS, p184, 1989.

SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Ruthenium red and capsazepine antinociceptive effect in formalin and capsaicin models of pain in mice. *Neurosc. Letters*, [s.l.], n. 235, p. 72-76, 1997.

[SHIVKAR YM](#), [KUMAR VL](#). Effect of anti-inflammatory drugs on pleurisy induced by latex of *Calotropis procera* in rats. *Pharmacol Res.* V. 50, Nº 3, P. 335-40, 2004.

SARTÓRIO, M. L.; TRINDADE, C.; REZENDE, P.; MACHADO, J. R. *Cultivo orgânico de plantas medicinais*. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000, 260p

SIEGEL, S. *Estatística não paramétrica: para ciências do comportamento*. São Paulo: Mc Graw Hill do Brasil, p.350, 1979.

SILVA, LMM; AGUIAR, IB; RODRIGUES, TJD. Seed germination of *Bowdichia virgilioides* Kunth, under water stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 5, nº 1, p. 115-118, 2001.

SMIDERLE, OJ; DE SOUSA, RCP. Dormência em sementes de Paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth – FABACEAE - PAPILIONIDAE). *Revista Brasileira de Sementes*, ol. 25, nº 2, p. 48-52, 2003.

SOMAVILLA, NS. *Utilização de plantas medicinais por uma comunidade garimpeira do sudeste matogrossense, Alto Coité – MT (Dissertação de Mestrado)*. ISC/UFMT, 100P, 1999.

SOUZA, MF. *Investigação das ações antiinflamatórias da ternatina: um estudo experimental*. Tese apresentada ao departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção de título de doutor em Farmacologia, 1998.

STUCKI, J. C. & THOMPSON, C. R. A screenig procedure for substances which inhibit dextran edema in the rat. *Am. J. Physiol.*, 193:(2) 275-282, 1958.

STUDENT. *Biométrica*, 6:1, 1908.

SWINGLE, K. F. & SHIDEMEN, F. E. Phases of inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 226-234, 1972.

TORRENEGRA, R.; BAUEREISS, P.; ACHENBACH, H. *Phytochemistry*. V. 28, Nº 8, p. 2219, 1989.

UGAZ, O. L. *Investigación Fitoquímica*. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, Fondo Editorial, 1994.

VELOSO, SM; SILVA, BP; BERNARDO, RB; PARENTE, JP. Odoratin 7-o-b-D-glucopyranoside from *Bowdichia virgilioides*. *Phytochemistry*. V. 52, P. 1473-147 1999.

VINEGAR, R.; TRUAX, J. F.; SELPH, J. L.; LEA, A.; JOHNSTON, P. R. Quantitative "in vivo" studies of the acute actions of anti-inflammatory drugs in the rat. *Eur. J. Rheumat. Inflamm.*, 1: 204-211, 1978.

WHITTLE, B. A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. *Br. J. Pharmacol.*, 22: 246-253, 1964.

WILLIAMS, D. H.. FLEMING, I.. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. London: McGraw-Hill book Company (UK) Limited, 1987.

WINTER, C. A & PORTER, C. C. Effect of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glycogen activities of hydrocortocosterone esters. *J. Amer. Pharm. Ass.*, 45: 515-519, 1957.

WINTER, C. A & PORTER, C. C. Effect of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glycogen activities of hydrocortocosterone esters. *J. Amer. Pharm. Ass.*, 45: 515-519, 1957.

WINTER, C. A., RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 3: 544-547, 1962.

YODER, H. Y.; SCHAEFFER JR. C. D. *Introtucion to Multinuclear NMR*. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company, INC, 1987.

**AÇÃO INSETICIDA DE EXTRATOS DE *Anacardium humile* ST. HILL. (ANACARDIACEAE) PARA
CONTROLE DE VETORES DE DOENÇAS
ENDÊMICAS E PRAGAS AGRÍCOLAS**

UNIDERP/UCDB/ UEMS/EMBRAPA/PANTANAL/UFMT

ROSEMARY MATIAS COELHO
UNIDERP
rosematias@yahoo.com.br
rosematias@brturbo.com.br

CAMPO GRANDE/MS
2005

RESUMO

O ressurgimento dos estudos com substâncias derivadas de plantas deve-se à necessidade de dispor de novos compostos biologicamente ativos sem os problemas que os produtos sintéticos podem proporcionar como: contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos não-alvos, efeitos colaterais, custos dos produtos sintéticos. As pesquisas com plantas que possam atuar no controle de vetores de doenças endêmicas, ação inseticida, bactericida, fungicida, larvicida e potencial para produção de um fitoterápico podem ser realizadas, basicamente, com dois objetivos: a descoberta de novas moléculas com atividade biológica que permita a síntese de novos produtos e a obtenção de um produto natural que possa ser utilizado por vários segmentos da sociedade. O objetivo deste trabalho é avaliar a ação dos extratos de *Anacardium humile* sobre vetores responsáveis por uma série de doenças que acometem a comunidade sul-mato-grossense. Assim como, verificar a ação destes extratos sobre bactérias, fungos, larvas e insetos das seguintes formas: repelência, inibição de alimentação, inibição de oviposição, inibição de crescimento, alterações do sistema hormonal, alterações morfológicas além da mortalidade entre outros. A proposta de produzir um produto natural deve ser vista como uma possibilidade de implantar uma técnica complementar ao sistema de manejo racional para a agricultura, pecuária e outros segmentos de produção do Estado, principalmente em se tratando do cultivo orgânico que permeia acima de tudo os pequenos produtores. Complementando os objetivos propostos, a produção de um fitoinseticida pode ampliar o leque de conhecimentos científicos sobre a espécie escolhida. Desta forma, a intensificação de estudos na área de Produtos Naturais é de suma importância para a economia da região pantaneira, com vista a gerar novos conhecimentos aplicados à produção de um produto natural quanto à composição química e as propriedades terapêuticas de modo direto /ou indireto de plantas e/ou produtos isolados, o que pode ser entendida como uma atividade de investigação sistemática de grande interesse para todos os segmentos da sociedade, principalmente, na obtenção de fitoinseticida de baixo custo e eficiente.

Palavras-chave: *Bemisia* sp, *Culex* sp; Fitoterápico; Manejo ecológico; Plantas inseticidas; Plantas larvicidas; *Sitophilus zeamais*; *Spodoptera frugiperda*; *Haematobia irritans*; *Cochliomyia hominivorax*.

SUMÁRIO

RESUMO	02
1. INTRODUÇÃO	04
- O potencial inseticida de produtos de origem vegetal para uso agrícola	04
- As doenças transmitidas e seus vetores: métodos usuais de controle	07
- A mosca branca <i>Bemisia</i> spp praga da cultura da mandioca	07
- A lagarta do cartucho-do-milho <i>Spodoptera frugiperda</i>	08
- Praga de grãos armazenados	08
- Planta Selecionada.	08
- As potencialidades do cajuzinho <i>Anacardium humile</i>	10
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVO GERAL	13
3.1 Objetivos Específicos	13
4. METODOLOGIA	14
4.1 Estudo morfoanatômico	14
4.2 Análise fitoquímica	15
4.3 Ensaio da ação antibiótica e antixenótica	16
4.4 Ensaio dos efeitos de <i>A. humile</i> na biologia e controle <i>Aedes aegypti</i> (culicidae)	18
4.5 Investigar os efeitos de <i>A. humile</i> na biologia e controle de mosca branca em mandioca	19
4.6 Avaliação do efeito em mosca-dos-chifres e em míases umbilicais de bezerros	20
4.7 Análise histopatológica da ação inseticida do extrato aquoso das folhas de <i>a. humile</i>	21
4.8 Estudar a propagação <i>in vivo</i> (estabelecimento e multiplicação) <i>A. humile</i>	21
5. RESULTADOS ESPERADOS	22
6. MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIA DE RESULTADOS	23
7. IMPACTOS PREVISTOS	23
8. EQUIPE	24
9. CRONOGRAMA FÍSICO PARA CADA OBJETIVO ESPECÍFICO/META FÍSICA	25
10. ORÇAMENTO GERAL DETALHADO	27
11. CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO	30
12. PLANOS DE TRABALHO	31
13. BIBLIOGRAFIA	41

1. INTRODUÇÃO

O Brasil considerado o país detentor da maior diversidade do planeta, e o atual momento de conscientização nacional e internacional mostra a necessidade da conservação e uso desse capital biológico (ODALIA-RÍMOLI et al., 2000).

A crescente consciência da importância da natureza e das complexas relações naturais na sobrevivência da espécie humana tem impulsionado a utilização de produtos naturais, tais como: fitoterápicos e semioquímicos (feromônios e aleloquímicos) no controle populacional de insetos.

Trabalhos de pesquisa envolvendo a utilização de extratos e óleos vegetais de espécies do cerrado e Pantanal vem se destacando por suas propriedades medicinais como: adstringente, analgésico, antidepressivo, antipirético, antiviral, bactericida, bacteriostático, béquimo, citofílico, desodorante, estimulante, fungicida, fungistático, imunoestimulante. Entretanto, a avaliação desses compostos com finalidades diversas, como, por exemplo, no controle de insetos pragas, de microorganismos patogênicos de plantas cultivadas, ou ainda como herbicida natural, é recente, visto que são poucos os trabalhos nesse campo (DAVIS, 1996; ALMEIDA, P.de A. et al., 1998).

Novos inseticidas naturais têm sido pesquisados e podem ser agrupados em várias classes químicas: terpenóides/limonóides, rocamidas, furanocumarinas e cromenos, alcalóides e de outras fontes (VIEIRA, HOSTETTMANN,; QUEIROZ, 2003).

Entre as espécies do bioma Pantanal e Cerrado que podem ser utilizadas nesta esfera estão aquelas que compõem o gênero *Anacardium*, as quais tem sido apontadas com potencial anti-microbiano, por apresentar substâncias que possuem grupos fenólicos formados de uma cadeia lateral alquil não isoprenóide tais como ácidos anacárdicos, cardois, metilcardois e cardanois obtidos do óleo da casca da castanha de caju *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) (KUDI et al., 1999; KUBO, LEE, KUBO, 1999; MUROI, KUBO, KUBO; 1993; LIMA, PASTORE, LIMA; 2000, MELO et al., 2003).

O potencial inseticida de produtos de origem vegetal para uso agrícola

Algumas plantas têm contribuído para o controle de pragas fornecendo ingredientes ativos inseticidas ou ainda como base para a síntese de novas moléculas para uso na agricultura, como por exemplo, a planta *Physostigma venenosum* utilizada para a síntese dos inseticidas carbamatos por Stedman e Berger (SILVA, 1990).

Grainge e Ahmed (1988) catalogaram 2.400 espécies de plantas com propriedades úteis no controle de insetos, além de uma listagem de 800 pragas controladas por essas plantas e ainda 100 plantas com outras substâncias químicas reportadas no controle de doenças e nematóides parasitas do homem e de animais. Schumutterer (1992) citou as famílias Meliaceae, Asteraceae, Labiaceae, Aristolochiaceae e Annonaceae como principais fontes de princípios ativos inseticidas.

A busca de sucedâneos para esses inseticidas tem produzido alternativas interessantes, como, por exemplo, o controle biológico e o desenvolvimento de cultivares resistentes às pragas. Uma vez que os mecanismos de defesa natural das plantas envolvem freqüentemente metabólitos secundários, o estudo fitoquímico associado às características de resistência natural, pode ser utilizado como uma nova alternativa. Extratos provenientes de plantas, ou os seus componentes ativos, têm sido utilizados no controle de insetos nocivos, como forma de se praticar uma agricultura sustentável (PRATES; SANTOS, 2000; SANTOS et al., 1998).

Os derivados botânicos podem causar diversos efeitos sobre os insetos como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases. A extensão dos efeitos e o tempo de ação estão sempre em função da dosagem utilizada, assim a morte ocorre nas dosagens maiores e os efeitos menores em tempo maior nas dosagens menores.

A utilização de doses sub-letais causa redução da população em longo prazo e empregam menores quantidades de produtos. As doses letais muitas vezes tornam sua utilização inviável pela grande quantidade necessária. Fernandes et al. (1993), comprovaram o potencial dos extratos de *Melia azedarach* (cinamomo), *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) e principalmente dos frutos de *Piper nigrum* (pimenta preta), para uso em programas de manejo de populações de insetos. A mamona *Ricinus communis*, demonstrou ser eficiente no combate de formigas cortadeiras em testes feitos por Hebling (1996).

Deve-se, no entanto, observar alguns cuidados na manipulação de produtos de origem vegetal. Alguns dos inseticidas vegetais testados mostraram ter toxicidade a animais de sangue quente, como os extraídos da família Annonaceae e outros assim como podem ser prejudiciais a insetos úteis como polinizadores, inimigos naturais e abelhas. No entanto, extrato de frutos de *M. azedarach* foi citada na literatura como tóxico a animais de sangue quente, embora se extraído das folhas, essa toxicidade seja bastante reduzida (SAXENA, 1989).

As doenças transmitidas e seus vetores: métodos usuais de controle.

Oriundo do velho mundo, região etiópica, o *Aedes aegypti* foi introduzido no Brasil no período colonial, provavelmente na época do tráfico de escravos. Díptero hematófago da família Culicidae, constitui um sério problema de Saúde Pública, pois é o vetor causador da arbovirosetais como febre amarela e dengue.

No Brasil a taxa de incidência do Dengue, segundo dados do Ministério da Saúde (ago/2004) situa-se em torno de 128,13 casos por 100.000 habitantes, e para o Estado do Mato Grosso do Sul a taxa de incidência é de 124,72, sendo em Campo Grande a taxa de 157,95. Dentre os 2740 casos novos notificados no estado para o primeiro semestre de 2004 cerca de 1135 ocorreram só na capital.

O uso de inseticidas organoclorados ou organofosfados de ação residual, como o BHC, DDT e posteriormente Dieldrin, para ataque de formas adultas de hematófagos, vetores e doenças, mostraram no início bons resultados, mas em pouco tempo esses produtos tornaram-se ineficazes contra os vetores (FRANCO; SILVA LIMA, 1967).

Um dos primeiros registros do uso de extratos de plantas contra larvas de mosquitos foi efetuado por Campbell (SUKUMAR et al., 1991) que observou a ação de alcalóides de plantas obtidas de *Anabasis aphylla* uma Chenopodiaceae originária da Rússia com capacidade de matar as larvas de *Culex pipiens* L., *C. territans* Walker e *C. quinquefasciatus* Say. Posteriormente Haller em 1940 observou a ação larvicida do extrato do fruto do *Phellodendron amurense*, e Wilconxon registrou que os extratos obtidos do *Aspidium filiximas* contém um constituinte tóxico ao *C. quinquefasciatus*, tratando-se de uma cetona, a floroglucinolpropilcetona.

Em condições de laboratório, Prempre e Sukhapath (1990) realizaram estudos de atividade larvicida de extratos de diferentes partes da planta *Derris elliptica* Benttham (Papilionaceae) e verificaram uma interferência no desenvolvimento das larvas e por final a morte destas devido ao efeito tóxico dos extratos.

SAXENA et al (1993) observaram a presença de alcalóides *Annona aquamosa* com efeito significativo na mortalidade, emergência e reprodutividade de larvas de *Anopheles stephensi*. Experimentos realizados por Pushpalatha e Muthukrishnan, (1995) demonstraram a atuação de extratos de plantas frente a larvas de *Anopheles stephensi*, *A. egyptie* e *C. quinquefasciatus*.

A mosca branca *Bemisia spp* praga da cultura da mandioca

A cultura assume elevada importância social, pois é a principal fonte de carboidratos para mais de 400 milhões de pessoas no mundo todo, em especial nos países em desenvolvimento. A produção de raízes da cultura da mandioca tem sido prejudicada pelo ataque de pragas e doenças, que atacam as raízes, ramos, folhas e produtos armazenados. Produtores de farinha de mandioca do estado se recusam a comprar mandioca proveniente de plantas atacadas por mosca branca ou com fumagina, por causarem sabor amargo no produto. Como dano indireto, o inseto pode ser vetor de vários geminivírus com sintomatologia variada.

Insetos sugadores denominados mosca-branca são Hemiptera (Homoptera) da família Aleyrodidae, considerado uma das maiores pragas da cultura da mandioca no estado, pela dificuldade de controle e por atacar inúmeras culturas. Agricultores têm buscado informações dos órgãos de pesquisa e extensão para buscar solução de controle desses insetos, que possuem poucas informações em para a cultura.

Adultos medem 1 a 2 mm de comprimento e 0,36 a 0,51 mm de largura, fêmea maior que o macho, o dorso amarelo-pálido e as asas brancas (SOUZA; VENDRAMIM, 2000). Já foram descritas cerca de 1200 espécies, com a grande maioria (724) nos trópicos, inclusive *Bemisia tabaci*, a mais importante pela capacidade de transmitir geminivírus às plantas.

De acordo com pesquisadores a raça B de *Bemisia tabaci* foi introduzida no Brasil por meio de plantas ornamentais e disseminada para outras culturas como feijão, mandioca,

algodão, quiabo, melão pimentão abobrinha, fumo. Os mesmos autores sugerem que *B. tabaci* seja um complexo sofrendo mudanças evolucionárias. Atualmente, considera-se *B. argentifolii* o biótipo B de *B. tabaci* (FARIAS, 1993; ZUCCKI et al., 1993; SOUZA; VENDRAMIM, 2000).

Ao sugarem as plantas, adultos e ninfas injetam saliva, que podem causar ação toxicogênica, no entanto há também os prejuízos indiretos como o aparecimento de fumagina, que reduz a capacidade fotossintética das folhas atacadas. O dano das ninfas manifesta-se através de pontos cloróticos nas folhas, enquanto que os adultos provocam amarelecimento e encrespamento das folhas apicais (GALLO et al., 2002).

Predadores, parasitóides e patógenos são agentes de controle biológico natural, no entanto, o método químico é o mais utilizado. Por razões sócio-econômicas e por possuir período vegetativo longo, a utilização de pesticidas nessa cultura raramente é recomendada. Não há produtos registrados para mosca branca na cultura da mandioca. O agricultor assim, no caso de grandes infestações, lança mão de produtos indicados para controle em outras culturas.

Produtos recomendados registrados nas diversas culturas, como feijão, tomate, etc..dos grupos químicos, fosforado, carbamato e piretróides. Como Horowitz e Ishaaya (1995) relataram que em ensaios de laboratório, a maioria dos produtos tem boa ação em insetos adultos, no entanto ocorrem o inverso em casa-de-vegetação e no campo. Os mesmos autores relataram que o controle nem sempre é eficiente, principalmente pelo fato das colônias localizarem-se na face inferior da folha e ainda ao rápido aparecimento de resistência.

A lagarta do cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda, é praga chave da cultura do milho, devido sua regularidade de ocorrência, consistência na amplitude de abrangência geográfica e potencialidade para causar danos economicamente significativos. É considerada a mais importante praga da cultura do milho nas condições do Brasil. O adulto é uma mariposa medido 35 mm de envergadura, com asas anteriores pardo-escuro e as posteriores apresentam-se branco-acinzentadas.

O ataque sobre o milho pode ocorrer desde a fase plântula até as de pendoamento e espigamento. As pequenas lagartas começam raspando o limbo, foliar de preferência das folhas mais novas, provocando o sintoma como é conhecida "folha raspada". Em ataques mais tardios podem se encontrados indivíduos entre o colmo e espiga, onde destroem a palha e alguns

grãos. As plantas danificadas por lagartas grandes podem ser facilmente identificadas devido a grande quantidade de fezes deixada no local do ataque. Nas condições brasileiras a medida percentual de prejuízos causados à produção pela lagarta do cartucho, depende do estágio em que a planta se encontra em ocasião de ataque, de 15% a 34% aos 30 dias e no florescimento respectivamente.

Praga de grãos armazenados

Os gorgulhos dos cereais *Sitophilus zeamais* e *S. oryzae* são besouros da família Curculionidae que atacam grãos de arroz e milho. É praga primária interna de grande importância, pois pode apresentar infestações cruzadas, ou seja, infestar grãos no campo e também no armazém. Tanto larvas, como adultos são prejudiciais e atacam o interior dos grãos. Apresenta elevado potencial de reprodução, pois tem muitos hospedeiros, como trigo, arroz, cevada, milho, triticale etc., atacando toda a massa de grãos, nela penetrando. Os danos causados se verificam na redução do peso e da qualidade do grão (GALLO et al., 2002; ZUCCKI et al., 1993).

A Planta Selecionada

O cajuzinho do cerrado *Anacardium humile* St Hill (Anacardiaceae), sin. *Anacardim pumilum* Walp., *Anacardium nanum* A.St Hill., é também conhecido popularmente como caju, cajuí, caju-do-campo de ocorrência em campo sujo e cerrado, especialmente arenosos, distribuído na Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, e São Paulo (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI; MATOS, 2002).

De acordo com a descrição botânica, a planta é um subarbusto hermafrodita de até 80 cm, glabro exceto o cálice e a corola, ramos vários, eretos, partindo de um xilopódio (caule subterrâneo) bem desenvolvido. Folhas alternas, simples, pecioladas a subsésseis, sem estípulas. A floração ocorre de junho a novembro com pico em agosto, com inflorescência panícula corimbosa, axilar, multiflora. Flores com cerca de 1 cm, actinomorfas, pediceladas, cálice pentapartido, corola externamente rósea, internamente alva, pétalas 5, livres, lanceoladas, estames 8 a 10, freqüentemente apenas 1 fértil (ALMEIDA et al., 1989). Fruto verdadeiro nóz com cerca de 1,5 a 2 cm, acinzentado, reniforme, brilhante, semente única, pseudofruto (pedúnculo desenvolvido) com aproximadamente 1,5 cm de diâmetro no ápice, vermelho,

claviforme, polpa alva, succulenta. O verdadeiro fruto (castanha) é do tipo aquênio e o pseudo-fruto contem polpa carnosa e doce (LORENZI; MATOS, 2002).

O caule subterrâneo pode armazenar água necessária para que a planta resista às secas prolongadas.

De acordo com Almeida et al. (1989) e Lorenzi e Matos (2002) seus pseudo-frutos são doces ácidos e comestíveis, consumidos in natura e na forma de doces, sucos e geléias e o fruto verdadeiro é utilizado da mesma forma que o caju verdadeiro. Com a fermentação da polpa, obtém uma espécie de vinho ou aguardente.

É uma planta melífera, importante para manutenção de polinizadores. Como tintorial, a tinta é usada em curtumes devido à grande quantidade de tanino (BRANDÃO; LACA-BUENDIA, 1991).

No entanto toda planta é utilizada na medicina caseira em várias regiões do país, como cautério, nas afecções da pele, contra diarreia, anti-sifilítico, contra tosse, para baixar o teor de glicose em diabéticos (LORENZI; MATOS, 2002). O endocarpo e a semente fornecem óleo corrosivo utilizado pelos índios para eliminar manchas e verrugas (ALMEIDA et al., 1989).

A propagação assexuada ou vegetativa é feita através da divisão das células, de partes vegetativas da planta, que promovem a duplicação do material genético e também do citoplasma, fazendo que o processo permita que se mantenha o mesmo genótipo das plantas propagadas, deste modo esperando que os indivíduos descendentes reproduzam o mesmo aparato bioquímico e os mesmos princípios ativos presentes na planta mãe.

Devido a carência de informações sobre o manejo de caju-do-cerrado (*Anacardium* sp) desenvolvida em locais diferentes de seu ambiente de áreas de Cerrado, faz-se necessário avaliar o comportamento desta espécie quando cultivadas em proporções necessárias para atender a demanda exigida pela sua utilização em escala industrial, para desta forma poder se fazer a análise comparativa dos compostos bioquímicos oriundos de plantas desenvolvidas em áreas nativas.

As potencialidades do cajuzinho *Anacardium humile*

O gênero *Anacardium* vem sendo amplamente investigado por vários seguimentos da comunidade científica nas últimas três décadas, quer seja no âmbito da medicina ou da área agropecuária, em se tratando-se da área medicinal temos pesquisas que apontam as seguintes atividades: anti-diarreico, anti-rotavírus, anti-fúngico, (LANS et al., 1999; GONCALVES et al., 2005); atividade antifúngica (SCHMOURLO et al., 2005); atividade antiinflamatória (MOTA et al. 1985; OLAJIDE et al., 2004; OJEWOLE et al., 2004); atividade hipoglicemiante/anti-diabetes (KAMTCHOUING et al., 1998; OJEWOLE et al., 2003; ALEXANDER-LINDO et al., 2004); atividade vaso relaxante (RUNNIE et al., 2004); atividade antioxidante (SINGH BET et al., 2004; MELO et al., 2003); atividade antimicrobiana (LAURENS et al., 1982; KUDI et al., 1999; KUBO et al. 1999; AKINPELU, 2001); atividade antiparasitária (FRANCA et al., 1993; FRANCA et al., 1996); atividade anticoagulante (WANG et al., 1998). Atividade moluscicida (SOUZA et al., 1992; MENDES et al., 1990; LAURENS et al. 1987).

Alem disso, o gênero *Anacardium* mostrou-se uma excelente propriedade larvicida em testes realizados com larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae), o que demonstra uma alternativa para o controle do desenvolvimento da larva deste inseto (CONSOLI et al., 1988).

Quanto sua ação moluscida espécies do gênero foram utilizadas em ensaios com espécies adultas e ovos de *Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, para tanto foram utilizados extratos hexânicos (LAURENS; BELOT; DELORME, 1987; MENDES et al., 1990b; SOUZA, et al., 1992).

Algumas espécies de *Anacardium* já foram investigadas quanto à ação anti-parasitária. demonstrando assim ser uma alternativa no tratamento da leishmaniose (FRANCA et al., 1993; FRANÇA; LAGO; MARSDEN, 1996) por agentes antimicrobianos presentes em frutas e hortaliças tropicais têm mostrado a obtenção de compostos fenólicos antibacterianos formados de uma cadeia lateral alquil não isoprenóide tais como ácidos anacárdicos, cardois, metilcardois e cardanois obtidos do óleo da casca da castanha de caju *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) (MUROI et al., 1993).

Ao contrário, os ácidos anacárdicos exibiram geralmente um espectro de atividade principalmente, contra bactérias Gram positivas, de maneira que esta atividade foi dramaticamente superior quando comparada com o ácido salicílico. Por exemplo, a atividade do ácido anacárdico 6-[8(Z),11(Z),14-pentadecatrienil]ácido salicílico contra *Streptococcus mutans* e

Staphylococcus aureus foi 2048 e 64 vezes, respectivamente, mais efetiva do que o ácido salicílico. Portanto, parece que a cadeia lateral alquil desempenha um papel importante em aumentar a atividade antimicrobiana.

2. JUSTIFICATIVA

Historicamente o uso de plantas vem sendo praticado desde a origem da humanidade, para a alimentação, e para a produção de: medicamentos, produtos agropecuários, cosméticos entre outras aplicações (HAMBURGER; HOSTTETTMANN, 1991). Neste contexto, as plantas possuem um laboratório bioquímico invejável, pois são capazes de sintetizar milhares de substâncias orgânicas em seu metabolismo, frutos da adaptação co-evolutiva com o meio ambiente. Grande número dessas substâncias apresenta alguma atividade biológica, portanto constituem um vasto e conspícuo campo de pesquisa (SANTOS FILHO, 1990).

Apesar do Brasil contar com cerca de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.00 e 550.000, um número pouco significativo destas espécies têm sido foco de pesquisas do ponto de vista químico e biológico (YUNES; CALIXTO, 2001), fatos estes que representam um grande potencial econômico para a produção de fitoterápicos e/ou a identificação e caracterização de novos agentes bioativos (ou, identificação, caracterização para produção de agentes bioativos para uso como medicamentos e inseticidas). Porém, o acelerado processo de devastação dos ecossistemas tropicais tem comprometido a preservação da flora brasileira.

Tratando-se do Pantanal que em terras brasileiras possui 13911 Km², este apresenta uma diversidade ímpar em relação aos outros biomas (POTT; POTT, 1994). Pelas estimativas mais recentes o Pantanal possui a maioria destas espécies vegetais aguardando indagações científicas, fato este que motiva pesquisadores a buscar as potencialidades das plantas pantaneiras como uma matéria prima a ser explorada de forma científica, na busca de produtos aplicados a medicina e agropecuária bem como a outros setores produtivos da região mato-grossense e sul-mato-grossense.

No que se refere à área agropecuária, cabe ressaltar que o Mato Grosso do Sul possui sua economia baseada na pecuária, produção de grãos, e com menor expressão a avicultura e piscicultura. Recentemente, vem despontando a produção apícola (ANUALPEC, 2003).

Estes setores incrementam o uso de produtos sintéticos como os agrotóxicos, antibióticos e outros produtos no combate a doenças que afetam tanto a agricultura como os outros setores produtivos, e, conseqüentemente a cadeia produtiva do Estado e o meio ambiente, com o uso de agrotóxicos, por exemplo.

A utilização de substâncias de origem vegetal na forma de isolados, extratos de misturas complexas ou associados em armadilhas, tem demonstrado grandes vantagens, como, por exemplo, a menor toxicidade, a biodegradabilidade e ação seletiva com relação ao inseto ou microorganismo alvo. A substância ativa ou grupo de substâncias é específico para o inseto ou pequeno grupo deles, geralmente não atingem seus predadores naturais quando da ingestão ou do contato com tais bioativos.

A utilização de produtos vegetais nas atividades médicas e agropecuária, aliada à tecnologia, além de resgatar as práticas acumuladas das populações locais, tende a diminuir os custos de produção, à medida que gera mais empregos, promove a sanidade ambiental e do homem e produz alimentos mais saudáveis. Assim, o estudo de recursos vegetais do Pantanal é mais do que simples motivação, constituindo-se num desafio.

O conhecimento das estruturas químicas dos produtos naturais, bem como de suas funções nas interações das plantas com os organismos vizinhos, possibilita uma melhor compreensão dos mecanismos bioquímicos dessas interações, tornando possível o desenvolvimento de novos agentes biocidas (GUERRA, 1985; SAITO; LUCHINI, 1998; PRATES; SANTOS, 2000; SAITO; SCRAMIN, 2000).

Desta forma, estudos que possibilitem o isolamento e identificação de substâncias biologicamente ativas de espécies vegetais do bioma pantanal são fundamentais no sentido de agregar valor a espécies nativas da região, contribuindo de forma direta e/ou indireta para o desenvolvimento da região pantaneira.

Busca-se assim uma alternativa viável e ecologicamente correta com a utilização de extratos ou moléculas com atividade sobre insetos de origem vegetal e regional que: reduzam às intoxicações e contaminações provocadas por agro-químicos sintéticos, proporcione um maior equilíbrio ecológico, reduzam os custos e aumentem a produtividade com qualidade ambiental.

Em se tratando da *Anacardium humile*, espécie comum no Pantanal de Paiaguás e Nhecolândia, assim como, no cerrado, apresenta ampla aplicação na medicina popular, com grande potencial alimentício e vem sendo objeto de estudos de grupos de pesquisas que visam comprovar sua aplicação medicinal, porém trabalhos que busquem utilizar extratos ou produtos isolados de diferentes órgãos desta espécie com atividade biocida não foram ainda explorados.

Assim, com este projeto será possível obter um maior entendimento da função do pantanal (ecossistema de grande biodiversidade) no Estado do Mato Grosso do Sul, além de fornecer conhecimentos para uma exploração racional de substâncias bioativas de *A. humile*. O *screening* de extratos de plantas do pantanal para a procura de produtos naturais bioativos por ensaios biológicos simples irá estabelecer um modelo para novas investigações nesse campo para preservar, estudar e explorar racionalmente o pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Cabe ressaltar ainda que a realização de pesquisas que visem gerar novos conhecimentos sobre as plantas, sua composição química e suas propriedades bioativas podem ser entendidas como uma atividade de investigações sistemáticas, pois envolve diferentes áreas do conhecimento.

3. Objetivo Geral

Determinar as potencialidades do cajuzinho *Anacardium humile* St Hill. (Anacardiaceae) no controle de larvas hematófagas, transmissoras de doenças e pragas que acometem a pecuária, a agricultura e grãos armazenados, e realizar ensaios biodirigidos, isolamento e identificação dos constituintes químicos e desenvolver técnicas de germinação e cultivo.

3.1 Objetivos Específicos

1. Descrever o local de coleta (mapeamento) das sementes e partes vegetativas das plantas nativas (matrizes) de *Anacardium humile*; criar de um banco de dados com informações sobre cada matriz e o local de coleta; coletar material suficiente para a execução de todas as etapas do projeto. Verificar as estruturas morfológicas e anatômicas dos diferentes órgãos do cajuzinho *A. humile*. (Eloty Justina Dias Schleder; Marçal Henrique Amici Jorge)
2. Elaborar extratos de diferentes órgãos de *A. humile*; isolar e identificar os compostos com atividade biocida. (Claudia A. L. Cardoso, Alex Jeller, Rosemary Matias Coelho)

3. Verificar a ação antibiótica e antixenótica de óleos essenciais, extratos aquosos e pós de *A. humile* sobre gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). (Silvio Favaro, Rosemary Matias Coelho)
4. Verificar a ação antibiótica e antixenótica de óleos essenciais, extratos aquosos e pós de *A. humile* sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). (Silvio Favaro, Rosemary Matias Coelho)
5. Investigar os efeitos de *A. humile* na biologia e controle *Aedes aegypti* (Culicidae). (Karla Rejane Porto)
6. Investigar os efeitos de *A. humile* na biologia e controle de mosca branca em mandioca. (Antonia Railda Roel)
7. Determinar os efeitos de *A. humile* sobre a fauna benéfica, polinizadores e inimigos naturais. (Antonia Railda Roel)
8. Avaliar a eficácia de *A. humile* no controle das infestações pela mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*). (Antonio Thadeu M. de Barros)
9. Avaliar a eficácia de *A. humile* na prevenção e tratamento de miíases umbilicais em bezerros. (Antonio Thadeu M. de Barros)
10. Avaliar a eficácia do inseticida através da análise morfométrica e histológica no sistema digestório e tegumentar da lagarta *Spodoptera frugiperda*. (Doroty Mesquita Dourado, Silvio Favaro)
11. Estudar a propagação *in vivo* (estabelecimento e multiplicação) *A. humile*. (Helma Jeller, Marçal Henrique Amici Jorge)

4. METODOLOGIA

4.1 ESTUDO MORFOANATÔMICO (Objetivo 1):

Na primeira fase do projeto, serão anotados dados de ocorrência e distribuição e características reprodutivas sobre as plantas de *Anacardium humile* St. Hil. Para isso, será adotado um sistema de planilha contendo itens como: data, localização geográfica, vegetação local, características de solo, tamanho da planta, coloração das flores e folhas, presença de folhas, flores e frutos, aspecto geral da planta, diâmetro do caule, etc. A coleta de dados geográficos será feita usando-se um aparelho GPS (Global Positioning System). Estes dados possibilitarão o levantamento e a caracterização dos ecótipos encontrados na área de estudo.

Serão também coletadas sementes, em vários estágios de desenvolvimento, e partes vegetativas como raízes e galhos verdes, com o propósito de estudar estas estruturas na propagação assexuada da planta. Estes materiais serão identificados, transportados em condições adequadas e acondicionados em local favorável. Todos os dados coletados serão digitalizados em um banco de dados interno que será criado em computador para armazenar e correlacionar os dados obtidos com resultados das fases posteriores.

Do material coletado será feito exsiccata e enviado para a UFMT/MT, para depósito no herbário, identificação, descrição, catalogação e registro.

Os órgãos destinados aos bioensaios serão coletados, fixados, as laminas serão preparadas e submetidas a análise anatômica para isto seguira os métodos apontados por Johansen (1940); Berlym e Mikche (1976).

4.1.1 Para testes microquímicos: Os testes microquímicos serão realizados, utilizando os seguintes corantes e reagentes para identificação de: (a) celulose e mucilagem - azul de metileno; (b) amido - lugol (ROTH, 1964); (c) compostos fenólicos - cloreto férrico e sulfato ferroso (JOHANSEN, 1940); (d) cutícula – sudan IV (FOSTER, 1949).

4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA (Objetivos 2)

4.2.1 Extração: a espécie *A. humile* será separada em partes (caule e folhas). Cada parte será extraída com solvente orgânico e/ou água. Em seguida, as misturas serão filtradas e concentradas em rotoevaporador sob pressão reduzida, em temperatura <40°C. Os extratos serão transferidos para vidros tarados e serão deixados em capela até completa eliminação dos solventes. No caso de óleos essenciais, os mesmos serão extraídos por arraste com vapor, usando o extrator de Clevenger.

4.2.2 Triagem cromatográfica: cada extrato será submetido a uma triagem cromatográfica a fim de se determinar à classe de produtos naturais presentes e, conseqüentemente, estabelecer uma estratégia para a separação dos componentes.

4.2.3 Isolamento: para o isolamento, uma parte do extrato será fracionada pelo método cromatográfico mais adequado. Em geral, extratos de baixa e média polaridade poderão ser fracionados por meio de coluna de sílica-gel eluída com solventes orgânicos em gradiente crescente de polaridade. Extratos de alta polaridade serão testados, em pequena escala, quanto à viabilidade de serem particionados entre solventes orgânicos e água ou através de

fracionamento preliminar em colunas de Amberlite XAD-2 eluídas primeiramente com água e, em seguida, com metanol. Caso um desses procedimentos se mostre adequado, ele será conduzido em grande escala, a fim de se proceder à etapa química. Alternativamente, os extratos poderão ser fracionados diretamente por meio de cromatografia de permeação em gel de Sephadex LH-20. As frações obtidas serão analisadas por meio de cromatografia comparativa em camada delgada; as que se mostrarem puras serão analisadas por métodos espectrométricos e aquelas que estiverem impuras serão purificadas por meio de HPLC em equipamentos da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)

4.2.4 Identificação/elucidação estrutural das substâncias isoladas: as substâncias isoladas serão identificadas por meio de métodos espectroscópicos, especialmente Ressonância Magnética Nuclear mono- e bidimensionais, Espectrometria de massas, Infravermelho, Ultravioleta e quaisquer outras que se fizerem necessárias, que serão realizadas em equipamentos da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Quando necessário, as substâncias poderão ser submetidas a reações químicas para modificação estrutural (metilação, acetilação, hidrogenação, hidrólise e outras) a fim de auxiliar na determinação estrutural.

4.2.5 Extratos, frações enriquecidas e substâncias puras para ensaios biológicos: os extratos, frações enriquecidas com princípios ativos e substâncias puras serão obtidos de acordo com a metodologia anteriormente descrita, repetindo-se o processo tantas vezes quantas forem necessárias até obtenção de quantidades suficientes para a execução dos ensaios biológicos.

4.2.6 Extração do óleo essencial de *A. humile* para ensaios biológicos: a extração do óleo essencial será utilizado aparelho de extração tipo cleveger, por 2 horas, que se baseia em hidrodestilação das substâncias voláteis (óleo essencial) (SIMÕES e SPITZER, 2000). Para separar e identificar os compostos voláteis será utilizado um cromatógrafo a gás acoplado ao , espectrometria de massa da UFMT/MT.

4.2.7 Preparação dos pós e extrato aquoso para os ensaios biológicos: as folhas frescas serão trituradas em liquidificador, com 1 litro de água destilada, por \pm 3 minutos, Para a obtenção do pó vegetal das plantas serão utilizadas folhas secas em estufa com circulação de ar e moídas em processador elétrico; o pó obtido será guardado em frasco âmbar para evitar possível oxidação do material até a hora de sua utilização.

Os extratos aquosos serão obtidos através maceração de 200 g de matéria fresca em 1000 mL de água destilada ficando em repouso por 24 horas e posteriormente filtrado. Após filtragem será completado novamente o volume com água até 1000 mL e conservado em frasco escuro até a utilização (máximo 24 horas).

4.3 ENSAIOS DA AÇÃO ANTIBIÓTICA E ANTIXENÓTICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS, EXTRATOS AQUOSOS E PÓS DE *A. humile* EM GORGULHO-DO-MILHO *Sitophilus zeamais* MOTSCH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) (Objetivos 3 e 4).

Para o desenvolvimento deste experimento serão utilizadas no primeiro momento as folhas de *A. humile*, e depois se estender aos demais órgãos. Os extratos obtidos serão submetidos aos bioensaios, assim como o óleo e pós.

4.3.1 As Criações dos insetos: As lagartas-do-cartucho (*S. frugiperda*) e os gorgulhos (*Sitophilus zeamais*) serão obtidas da criação do Laboratório Entomologia da UNIDERP e as manutenções dos mesmos seguiram as metodologias descritas por Favero e Conte (2000), Fávero e Lima (2002).

4.3.2 Bioensaios: Os óleos essenciais e extratos aquosos e orgânicos serão submetidos aos seguintes bioensaios: Ação Tóxica-(curva de concentração-mortalidade), repelência, fumigação e fagoinibição. Serão utilizados adultos de *Sitophilus zeamais* com 2-7 dias de idade e não sexados e larvas de *Spodoptera frugiperda* com 10 dias de idade conforme métodos descritos por Conte *et al.* (2000); Favero e Conte (2000), Fávero e Lima (2002).e Conte (2001).

4.3.3 Ação Tóxica – CL₅₀ e CL₉₉ *S. zeamais* e *S. frugiperda*: estes ensaios seguiram as métodos descritas por Finney (1971), para ajuste da curva concentração mortalidade e determinação da CL₅₀ e CL₉₉. Serão considerados mortos aqueles indivíduos que ao serem tocados por um estilete não se movem.

4.3.4 Repelência: os testes de repelência serão realizados conforme método descrito por Alonso-Amelot (1995) e Conte (2001) com adaptações Conte e Fávero (2001). O índice de repelência (IR%) é calculado pela equação:

$$IR \% = \left(1 - \frac{T}{T + C} \right) \times 100$$

Onde: T = número de insetos sobre a superfície tratada e,
C = número de insetos sobre a superfície controle
Os dados serão submetidos ao Teste de t, tendo como hipóteses:
H₀: $\mu = 50\%$ H_i: $\mu \neq 50\%$,

Isto é, óleos com índices de repelência igual ou inferior a 50% não serão considerados efetivos (SOKAL e ROHLF, 1994). Os testes serão realizados em uma temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e uma umidade relativa do ar de $70 \pm 5\%$.

4.3.5 Fumigação – *S. zeamais*: Os testes de fumigação serão desenvolvidos em câmaras de fumigação, conforme método descrito por Conte (2001), com modificações. Os dados serão tabulados e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, segundo Sokal e Rohlf (1994).

4.3.6 Fagoinibição – *S. frugiperda*: Serão realizados testes de fagoinibição para *S. frugiperda* conforme método adaptado de Fávero e Lima (2002) para *S. frugiperda*. A eficiência dos tratamentos será medida através do Índice de Fagoinibição (IF%) conforme equação abaixo.

$$IF \% = \left(1 - \frac{T}{T + C} \right) \times 100$$

Onde: T = área consumida na superfície tratada e,

C = área consumida no controle

Os dados serão submetidos ao Teste de t, tendo como hipóteses: $H_0: \mu = 50\%$

$H_i: \mu \neq 50\%$,

Isto é, óleos ou extratos com índices de fagoinibição igual ou inferior a 50% não serão considerados efetivos (SOKAL; ROHLF, 1994).

Em paralelo as substâncias em testes serão incorporadas a um meio de cultura (dieta artificial) de acordo com método proposto por Roel *et al.* (2000) onde serão avaliados os efeitos das substâncias vegetais sobre o desenvolvimento da lagarta-do-cartucho, como: duração de ínstars, alterações morfológicas, viabilidade de pupas e duração do ciclo biológico total.

4.3.7 Efeito de pós de origem vegetal sobre *S. zeamais*: O material vegetal seco e moído será incorporado a grãos de milho nas proporções de 10; 20 e 40 ppm, um controle sem material vegetal e um outro controle onde os grãos serão tratados com deltametrina. Do material tratado serão separados 10 lotes de 20 gramas por tratamento e nestes serão introduzidos 10 casais de *S. zeamais* com 3-7 dias de idade. Serão realizadas avaliações a cada 24 horas durante 10 dias, nestas avaliações será contado o número de insetos mortos por lote (parcela). No sexto dia após a aplicação serão retirados todos os insetos vivos ou não e os lotes mantidos em laboratório por 30 a 120 dias, onde será avaliado semanalmente o número de insetos emergentes por parcela e o efeito residual dos pós-vegetais.

Chance de escolha: Do material tratado com os pós-vegetais serão separados 10 lotes de 2 g por tratamento para realização do teste com chance de escolha. Este teste será realizado em uma arena confeccionada com uma placa de petri de 150mm de diâmetro. Os grãos de milho tratado serão dispostos conforme a figura 1. No centro da arena serão liberados 10 insetos adultos não sexados com 3-7 dias de idade. Após 24, 48 e 72 horas após a liberação será contado o número de insetos em cada parcela.

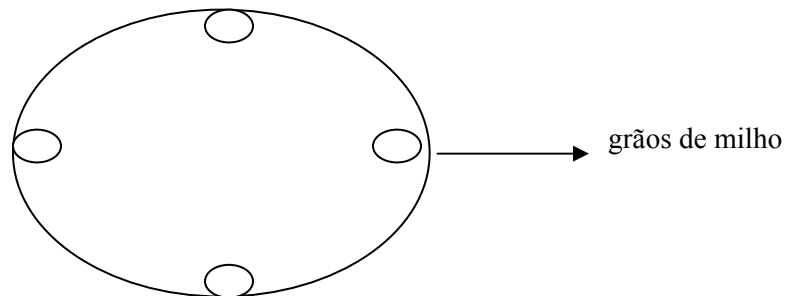


Figura 1. Esquema da arena para testes com chance de escolha.

4.3.8 Avaliação em Casa de Vegetação: Os materiais vegetais que forem considerados efetivos pela análise estatística serão testados em condições de casa de vegetação. Para os testes os extratos/óleos serão aplicados em plantas de milho conforme Favero e Conte (2000), As variáveis avaliadas serão: dano na planta número de insetos mortos/planta após 7 dias de infestação. Cada material vegetal será repetido 5 vezes tendo água como controle Favero e Conte (2000). Os dados serão submetidos à análise de variância em delineamento experimental em blocos casualizados.

4.3.9 Análise dos dados: os experimentos serão realizados em delineamento estatístico inteiramente casualizado com 5 tratamentos (0; 10; 20; 40 ppm de pó vegetal e deltametrina) e 10 repetições. Os dados serão analisados e submetidos a análise de variância. se houver diferenças entre os tratamentos as médias serão separadas por contrastes ortogonais. as variáveis analisadas serão: proteção: número de insetos mortos/dia. número de insetos emergidos acumulados após 30-120 tratamento.chance de escolha: número de insetos nos tratamentos após 24, 48 e 72 horas após a liberação.

4.4 ENSAIOS DOS EFEITOS DE *A. humile* NA BIOLOGIA E CONTROLE *Aedes aegypti* (CULICIDAE) (Objetivo 5).

4.4.1 Coleta com Armadilhas de Oviposição: as coletas serão realizadas seguindo metodologia descrita por Consoli e Lourenço de Oliveira (1994).

4.4.2 Colônia de Mosquitos *C. quinquesfasciatus* e *A. aegypti*: os mosquitos de ambas as espécies serão criados e mantidos no insectário da UCDB, a colônia implementada será mantida a partir de ovos armazenados. O insetário deverá ser instalado em sala própria, segundo padrão da OMS descrito em Consoli e Lourenço de Oliveira (1994).

4.4.3 Criação e Manutenção dos Mosquitos: a criação e manutenção dos mosquitos seguirá metodologia descrita por Consoli e Lourenço de Oliveira (1994).

4.4.4 Bioensaio: A partir de uma solução estoque a 500 ppm dos extratos etanólicos secos, é realizado o estudo preliminar, utilizando 25 larvas, para certificar a atividade larvicida observada. Após a certificação da atividade é conduzido o teste apurado, utilizando 100 larvas, para definir a CL_{90} , CL_{50} e CL_{10} de cada extrato testado e também para testar o produto isolado seguindo metodologia descrita por Consoli e Lourenço de Oliveira (1994).

4.5 INVESTIGAR OS EFEITOS DE *A. humile* NA BIOLOGIA E CONTROLE DE MOSCA BRANCA EM MANDIOCA (Objetivos 6 e 7).

4.5.1 Criação de mosca branca em casa-de-vegetação: os insetos coletados em Ivinhema, MS em mandiocais infestados, serão transportados para casa-de-vegetação e criados em gaiolas com plantas de mandioca com cerca de 2 meses de idade. O material para identificação será enviado para Dr^a Regina Villarino (Embrapa/Cenargen), juntamente com material coletado no município de Campo Grande.

4.5.2 Efeitos sobre o inseto e eficiência de controle: cada tratamento constará de cinco plantas de mandioca da cultivar mais plantada na região de Ivinhema, contidas em gaiolas de armação de madeira e tela de nylon de malha fina, mantidos em casa-de-vegetação, total de sete gaiolas (sete tratamentos). Nestas, serão infestadas com 20 adultos recém emergidos de mosca branca da criação estoque. O desenvolvimento do experimento seguirá os seguintes tratamentos: Extrato do cajuzinho *Anacardium humile*; Óleo emulsionável de nim *A. indica* (1%); Extratos aquosos de folhas e ramos de cinamomo *Melia azedarach* (2%); Testemunha padrão – Thiamethoxam 250 WG (50 g i.a./ha) e Testemunha – solução nutritiva (composição e pH semelhante à planta). A eficiência será calculada pela fórmula de Ábott (NAKANO, 1981). As

médias amostradas por tratamento em blocos ao acaso, serão comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,5\%$). As médias foram comparadas pelo teste de ($P \leq 0,5\%$).

4.5.3 Avaliação de produtos vegetais sobre inimigos naturais e polinizadores na cultura da

mandioca: na lavoura de mandioca em campo, uma vez por semana serão efetuados levantamentos da ocorrência de inimigos naturais e insetos polinizadores, com a contagem por espécie na área útil. Estes serão fotografados para posterior publicação. Folhas com insetos praga serão levados ao laboratório para constatar a presença de parasitóides nos ovos e jovens de insetos fitófagos. Os produtos vegetais; *Anacardium humile*, *Azadiracta indica*, *Melia azedarach* e o inseticida recomendado serão aplicados em pulverização. As concentrações serão determinadas pela equação de (BLISS, 1934): O Delineamento experimental será de blocos ao acaso em quatro repetições. Parcelas de 4 linhas de mandioca de 5 metros de comprimento. Os resultados serão avaliados por meio de análises de variância, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV/CPD, 1997). A comparação das médias será realizada utilizando-se o teste “t” ao nível de 5%.

4.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO EM MOSCA-DOS-CHIFRES E EM MIÍASES UMBILICAIS DE BEZERROS (EMBRAPA PANTANAL) (Objetivos 8 e 9).

O efeito do extrato de *A. humile* (caju do campo) será avaliado em relação à sua eficácia no controle das infestações pela mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) e na prevenção/tratamento de miíases causadas pela mosca-varejeira (*Cochliomyia hominivorax*) em umbigos de bezerros. O extrato será obtido e fornecido pela UNIDERP. Os testes serão realizados na Fazenda Nhumirim, de propriedade da Embrapa Pantanal, localizada na subregião da Nhecolândia, Pantanal sul-mato-grossense.

4.6.1 Avaliação da eficácia no controle da *Haematobia irritans*: para avaliação do extrato de *A. humile* serão utilizados três grupos com, no mínimo 20 bovinos nelorados cada, mantidos em invernadas separadas. Dois grupos serão tratados com extrato nas concentrações de 5% e 10%, diluído em óleo de soja e aplicado dorsalmente nos animais (aplicação “pour-on”). O outro grupo (testemunha) receberá aplicação “pour-on” de óleo de soja. Ajustes nas concentrações de *A. humile* poderão ser realizados em testes subseqüentes em função dos resultados obtidos no decorrer do estudo.

O número de moscas-dos-chifres sobre os animais será registrado antes do tratamento (dia “zero”) e, posteriormente, nos dias 1, 3 e 7 pós-tratamento. Caso o extrato apresente efeito

mais prolongado o monitoramento do nível de infestação será efetuado semanalmente até que o efeito do tratamento não seja observado. Este procedimento será realizado em todos os grupos.

As contagens de moscas serão realizadas pela manhã nos animais contidos no brete, por dois observadores contando as moscas presentes dorsalmente em cada lado do animal. A eficácia do extrato no controle da mosca será avaliada comparando-se as infestações em animais tratados e não tratados.

4.6.2 Avaliação da eficácia na prevenção/tratamento de miíases (*C. hominivorax*): Será avaliado o extrato de *A. humile* com relação à eficácia na prevenção e/ou tratamento de miíases umbilicais em bezerros. O estudo será realizado de setembro a dezembro, durante duas estações de nascimento (2006 e 2007). No primeiro ano de estudo o extrato será testado nas concentrações de 5% e 10%. Animais do grupo controle não receberão qualquer tratamento. Resultados obtidos no primeiro ano poderão determinar mudanças nas concentrações a serem utilizadas no segundo ano.

O extrato será aplicado topicamente, em veículo oleoso (óleo de soja), de modo a tratar toda a região umbilical de bezerros recém-nascidos (30 bezerros/tratamento). O tratamento será realizado tanto em bezerros sadios como em animais já parasitados. A eficácia dos tratamentos será monitorada a cada 2 a 3 dias pós-tratamento até a completa cicatrização do umbigo ou instalação de miíase. Animais que apresentarem miíase serão tratados com produto comercial larvicida.

A eficácia do extrato na prevenção e/ou tratamento de miíases será avaliada através da comparação dos resultados entre animais tratados e não tratados.

4.7 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DA AÇÃO INSETICIDA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *A. humile* (Objetivo 10)

Amostras serão coletadas da lagarta em estudo para avaliar a atividade inseticida do extrato aquoso das folhas *A. humile* sobre a pele e tubo digestivo da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) do milho e para isso será efetuada análise histológica dos tecidos, para caracterizar o padrão de alterações em função do tempo de exposição ao inseticida.

Os espécimes serão coletados em campo e trazidos para laboratórios e colocados na geladeira por um período variável de tempo, até tornarem-se não responsivos à manipulação, sendo, a seguir, decapitados. Após, as amostras serão colocadas em Formol tamponado a 10% por 24 horas. O material será processado para inclusão em parafina. Os blocos de tecido serão confeccionados e cortados em micrótomo e as secções serão coradas em hematoxilina-eosina

(HE), tricrômico de Masson para observação ao microscópio de luz e quantificação da proporção de células lesadas e células que não sofreram necrose (normais). Análises imunohistoquímicas serão realizadas para identificar proteínas específicas que se expressam em casos de injúria e proteínas apoptóticas.

4.8 ESTUDAR A PROPAGAÇÃO *IN VIVO* (ESTABELECIMENTO E MULTIPLICAÇÃO) *A. humile* (Objetivo 11)

Com a finalidade de avaliação do enraizamento *in vivo* de estacas *Anacardium humile* o experimento será conduzido em casa de vegetação, vinculado ao Laboratório de Biociências da Universidade Católica Dom Bosco utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com cinco repetições, em que cada parcela será constituída por quatro estacas, com 10 e 20 cm de comprimento, as quais serão tratadas com 0,80 ou 160 mg/l de fitorregulador ácido indol butírico (AIB), por duas horas, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x2, definidos pelas combinações dos fatores: comprimento da estaca (10 e 20 cm), soluções de AIB (0, 80 ou 160 mg/l).

As plantas serão mantidas em casa de vegetação em sacos plásticos com substrato vegetal. As estacas serão coletadas da região mediana de plantas matrizes com um ano de idade, sendo que as estacas com 10 cm de comprimento com uma gema e as de 20cm duas gemas. Os dois tipos de estacas serão colocados, durante 2 horas, em solução de AIB (0; 80; 160 mg/l), exceto as estacas controle (0) que serão colocadas diretamente no substrato. O pH das soluções será ajustado para 5,8. Após a imersão nas soluções, as estacas serão colocadas em saco de polietileno, com capacidade para 500ml, contendo como substrato areia lavada, mantidas sob sombrite, com redução de luz em 50% e irrigação uma vez ao dia. Serão avaliados aos 45 dias após a instalação do experimento: o número, comprimento e peso da matéria seca de raízes e parte aérea. As análises de variância dos dados obtidos serão realizados de acordo com esquema para os experimentos fatoriais, e as comparações de médias dos tratamentos, serão feitas usando-se o teste de Tukey (5%).

Os testes de germinação padrão e vigor serão feitos adaptando-se a metodologia de outras espécies para a espécie em estudo. Para isso, serão seguidas as normas técnicas da ISTA (1995) e AOSA (1983). Os testes de vigor serão: emergência, velocidade de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas; peso úmido e seco de raízes e parte aérea de plântulas; número de brotações; tamanho de plântulas; diâmetro de raízes; número de raízes; etc. Técnicas de propagação e formação de mudas serão os citados por Luna (1991), Henriques (1995), Bianchetti et al. (1998), Sartorio et al. (2000), Chaves (2000) e CESP (2000), porém

adaptados para a espécie e condições locais onde o estudo será conduzido. Os seguintes parâmetros serão também considerados: temperatura e umidade da casa de vegetação, diferentes tipos de substrato, frequência de irrigação, quantidade de água aplicada por turno de rega, recipiente utilizado para formar as mudas, etc. Para todos os testes utilizados nesse projeto, e de acordo com as condições experimentais, serão adotados os delineamentos inteiramente ao acaso, em blocos e fatorial. Para a análise dos dados (ANOVA, comparação de medias, correlação, etc.) será usado o programa estatístico JMP, versão 4.0.4 (Acadêmica). Os resultados, após análises, serão usados na decisão de quais formas de propagação e formação mudas de cajuzinho do cerrado, são mais viáveis. Durante toda essa fase, os resultados serão processados e divulgados em congressos, simpósios e encontros com associações de assentamentos rurais locais”.

5. RESULTADOS ESPERADOS

- Descrição da área de ocorrência do cajuzinho (*Anacardium humile*);
- Identificação do método de propagação do *A. humile*;
- Multiplicação do cajuzinho *A. humile*;
- Determinação dos efeitos biocidas do cajuzinho *A. humile* sobre *Aedes aegypti* (Culicidae);
- Determinação dos efeitos biocidas do cajuzinho *A. humile* sobre a mosca branca *Bemisia* sp;
- Determinar a seletividade do cajuzinho *A. humile* sobre insetos benéficos na agricultura;
- Redução da infestação de *Aedes aegypti* e da incidência de doenças transmissíveis;
- Determinação do potencial biocida, medicinal e toxicidade de cajuzinho *A. humile*;
- Determinação do potencial do cajuzinho *A. humile* no controle da mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans* (Muscidae);
- Determinação do potencial cicatrizante de *A. humile* em feridas de segunda intenção;
- Determinação do potencial do cajuzinho *A. humile* na prevenção e tratamento de miíases umbilicais em bezerros;
- Capacitação de recursos humanos em níveis de Iniciação Científica;

6. MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIA DE RESULTADOS

- Relatórios parciais e finais
- Publicações de artigos científicos, técnico científicos.
- Apresentação de trabalhos em eventos

Com a consolidação dos ensaios realizados com os extratos brutos e frações assim como o sistema de cultivo buscar-se-á parceria a Incubadora da UNIDERP, com o objetivo de buscar parcerias no desenvolvimento de uma forma farmacêutica, controle de qualidade do produto obtido com vista a patente do processo desenvolvido assim como do produto final.

7. IMPACTOS PREVISTOS PELO PROJETO

7.1 ATIVIDADES ECONÔMICAS DE IMPACTO POTENCIAL DO PROJETO

- Utilização comercial de produto inseticida de origem vegetal nativa do Pantanal Matogrossense

7.2 IMPACTOS CIENTÍFICOS

- Publicações em eventos
- Publicações Técnica científicas
- Palestras
- Publicações Científicas
- Capacitação de alunos em Iniciação Científica
- Desenvolvimento de alternativas de controle de insetos

7.3 IMPACTOS TECNOLÓGICOS

- Patentes do processo de obtenção, cultivo e/ou do produto inseticida

7.4 IMPACTOS ECONÔMICOS

- Diminuição das doenças transmitidas por hematófagos
- Redução dos custos de produção de atividades agrícolas
- Alternativa de controle de *Aedes aegypti*
- Alternativa de controle da mosca branca *Bemisia* sp
- Alternativa de controle da mosca do chifre *Haematobia irritans*
- Alternativa de controle de míases *Cochliomyia hominivorax*
- Alternativa de controle da lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*
- Alternativa de controle do gorgulho *Zea mays*

7.5 IMPACTOS SOCIAIS

- Palestras

- O cultivo da *A. humile* poderá contribuir na agricultura familiar visando não apenas no fornecimento de matéria prima para a industria mas também na utilização desta espécie na industria de alimentos.
- Valorização de plantas nativas do Pantanal

7.6 IMPACTOS AMBIENTAIS

- Diminuição de riscos ambientais pela utilização de agentes químicos utilizados no controle de mosca branca, gorgulho e *Aedes aegypti*.
- Diminuição de riscos ambientais pela utilização de agentes químicos utilizados no controle da mosca branca *Bemisia* sp, do gorgulho *S. zeamais*, lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*, do hematófago *Aedes aegypti*, da miíase *Cochliomyia hominivorax* da mosca-do-chifre *Haematobia irritans*.
- Alternativas ao uso extrativo do *A. humile*
- Valorização de plantas do pantanal e proteção da biodiversidade

8. EQUIPE:

Nome	CPF	Título	Instituição (país/ano)	Área especialização	Instituição atual	Função projeto	Objetivos em que atuará
Eloty Justina Dias Schleder	154.028.000-49	MSc.	UNIDERP/2002	Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional	UNIDERP	Pesq. Exec. ²	Análise morfoanatômica e histoquímica
Claudia A. L. Cardoso	572287100-10	Dr.	IQ-UNESP/2000	Química	UEMS	Pesq. Exec.	Estudo fitoquímico
Alex H. Jeller	979.084.879-04	Dr.	IQ-UNESP/2003	Química	UEMS	Pesq. Exec.	Estudo fitoquímico
Rosemary Matias*	434.0255.09-20	MSc	UEM/1995	Produtos Naturais	UNIDERP	Coord. ³	Estudo fitoquímico do bioinseticida
Silvio Favero	053696968-02	Dr.	UENF/1998	Proteção de plantas	UNIDERP	Pesq. Exec.	Verificar a ação antibiótica e antixenótica, extratos de <i>A.humile</i> sobre <i>S. zeamais</i> e <i>S. frugiperda</i>
Antonia Rilda Roel	848286688-53	Dr ^a	USP/1998	Entomologia agrícola	UCDB	Pesq. Exec.	Efeito dos extratos sobre pragas agrícolas e insetos benéficos
Antonio	799099577-87	Dr.	Louisiana	Entomologia	EMBRAPA	Pesq.	Avaliação do

²Pesq. Exec. Pesquisador executor (a)

³ Coord. Coordenadora

Thadeu M. de Barros			State University (USA)/1998	Veterinária		Exec.	efeito dos extratos em mosca-dos-chifres e em miíases
Marçal Henrique Amici Jorge	167946548-14	Dr.	University of Arizona (USA)	Plant Science	Embrapa	Pesq. Exec.	Domesticação e Cultivo
Helma Jeller	528885769-53	Dr ^a	UFSCar/2002	Botânica (Ecofisiologia)	UCDB	Pesq. Exec.	Propagação <i>in vivo</i> (estabelecimento e multiplicação)
Karla Rejane Porto	580585594-15	Msc	UFAL/2003	Fitoquímica e hematófagos	UCDB	Pesq. Exec.	Efeito sobre larvas hematófagas
Doroty M. Dourado	338.279.901-49	MSc	UNICAMP/1998	Histologista	UNIDERP	Pesq. Exec.	Análise histológica

* Doutoranda em Química área de Concentração Produtos Naturais na Universidade Estadual de Maringá/PR

9. Cronograma Físico para cada Objetivo Específico/Meta Física

Objetivo 1 (1^o-3^o ano) Eloty Justina Dias Schleder, Marçal Henrique Amici Jorge	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Descrição do local de coleta (mapeamento) das sementes e partes vegetativas das plantas nativas (matrizes) de <i>Anacardium humile</i>	Mapeamento de todas as plantas que serão usadas como matrizes.	1-6
Criação de um banco de dados com informações sobre cada matriz e o local de coleta.	Coleção e armazenamento dos dados de todas as plantas que serão usadas como matrizes.	1-6
Coleta de material para a execução de todas as etapas do projeto	Desenvolvimento do projeto	1-30
Análise histoquímica dos diferentes órgãos coletados em diferentes locais e diferentes períodos, avaliação da sazonalidade	Número de espécies e órgãos analisados. Coleta de dados Tabulação dos dados	2-24
Redação do artigo	Artigo	24-36
Objetivo 2 (1^o-3^o ano) Alex Jeller, Claudia A. L. Cardoso, Rosemary Matias	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Coleta e preparação dos extratos	Massa e rendimento dos extratos	1-6
Fracionamento	Número de frações	10 - 30
Isolamento	Número de compostos isolados	10 - 30
Análises espectroscópicas	Número de análise	10 - 30
Identificação	Número de Compostos identificados	10 - 30

Redação do artigo	Artigo	3 -28
Objetivo 3 (1º-2º ano) Silvio Favaro	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Criação e manutenção dos gorgulhos <i>Sitophilus zeamais</i>	Número de exemplares mantidos vivos	2-12 (a cada 3 meses)
Bioensaios: ação tóxica (curva de concentração-mortalidade), repelência, fumigação e fagoinibição.	Experimento instalado	3-12
Avaliações dos efeitos	Planilha dos dados	6-12
Tabulação dos resultados	Tabela com dados	8-12
Redação do artigo	artigo	18-30
Objetivo 4 (2º-3º ano) Silvio Favaro	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Criação e manutenção do lagarta-do-cartucho <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).	Número de exemplares mantidos vivos	13-28
Bioensaios: ação tóxica (curva de concentração-mortalidade), repelência, fumigação e fagoinibição.	Experimento instalado	13-28
Avaliação em casa de vegetação	Planilha dos dados	13-28
Avaliações dos efeitos	Planilha dos dados	13-28
Tabulação dos resultados	Tabela com dados	13-28
Redação do artigo	Artigo	13-28
Objetivo 5 (1º ano) Karla Rejane Porto	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Instalação da casa-de-vegetação	Casa-de-vegetação em funcionamento	1-3
Coleta de insetos (<i>A. aegypti</i>)	Ovitrapas	3-24
Criação de larvas	Reservatórios com criação	3-24
Criação dos insetos adultos	Gaiolas com criação	3-24
Manutenção da colônia	Insetário em funcionamento	3-36
Aplicação dos tratamentos	Experimento instalado	4-30
Avaliações dos efeitos	Planilha dos dados	6-30
Tabulação dos resultados	Tabela com dados	6-30
Redação do artigo	Artigo	12-36
Objetivo 6 (1º-2º ano) Antonia Railda Roel	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Instalação da casa-de-vegetação	Casa-de-vegetação em funcionamento	1 -3
Preparo dos vasos e plantio	Vasos com plantas	4-6
Coleta de insetos	População de insetos	6-6
Criação dos insetos	Gaiolas com criação	7-30
Preparo das concentrações	Caldas prontas	7-30
Aplicação dos tratamentos	Experimento instalado	7-30
Avaliações dos efeitos	Planilha dos dados	7-30
Atualização da Revisão Bibliográfica	Dados atuais	14-15
Tabulação e análise estatística dos dados	Tabela com dados	12-14
Redação do artigo	Artigo	12-36
Objetivo 7 (2º-3º ano) Antonia Railda Roel	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Escolha da área de marcação	Área determinada para experimento	18 -18

Análise do solo, correções e marcação das parcelas e blocos	Área de experimento preparada	19-21
Plantio	Área plantada	22-22
Revisão bibliográfica	Número de artigos consultados	18-30
Preparo das caldas	Caldas prontas	18-18
Aplicação dos tratamentos	Experimento instalado	19-19
Avaliações	Planilha com dados	19-20
Tabulação dos dados e análise estatística	Tabela dos resultados pronta	21-22
Observação dos efeitos sobre os insetos em laboratório	Dados de laboratório	22-23
Redação dos resultados	Relatório final do plano	24-26
Apresentação dos resultados em eventos de I.C.	Painel	27-28
Redação de artigo e envio a revista científica	Artigo enviado à publicação	25 - 30
Objetivos 8 e 9 (1º-2º ano) Antonio Thadeu M. de Barros	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Analisar a eficácia no controle da mosca-dos-chifres	Tratamento dos animais e monitoramento	6 - 24
Analisar a eficácia na prevenção e tratamento de miíases umbilicais em bezerros	Tratamento dos animais e monitoramento	6 - 24
Objetivo 10 (2º-3º ano) Doroty M. Dourado	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Coleta de material do experimento Criação e manutenção do lagarta-do-cartucho <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).	Número de animais com resposta positivas e negativas: avaliação histológica, imunensaio	13-28
Bioensaio: ação tóxica (curva de concentração-mortalidade), repelência, fumigação e fagoinibição.	Número de animais com resposta positivas e negativas: avaliação histológica, imunensaio	13-28
Revisão bibliográfica	Número de artigos consultados	13-28
Aplicação dos tratamentos	Número de animais com resposta positiva e negativas	13-28
Avaliações	Planilha com dados	13-28
Tabulação dos dados	Tabela dos resultados pronta	13-28
Observação dos efeitos em laboratório	Dados de laboratório	13-28
Divulgação dos resultados	Participação em eventos	13-28
Redação dos resultados	Artigo	13-28
Objetivo 11 (1º-3º ano) Marçal Henrique Amici Jorge, Helma Jeller	Indicador físico de execução	Prazo (início e fim)
Analisar formas viáveis de propagação (via sexuada ou assexuada) e formação (substrato, irrigação, temperatura, luminosidade) de mudas de <i>A. humile</i>	Número de mudas	4 - 36

10. ORÇAMENTO GERAL DETALHADO

CUSTEIO GERAL	
Elemento de Despesa	R\$
Diárias	23.137,00
Material de Consumo	132.522,00
Passagens e Despesas com locomoção	26.734,00
Outros Serviços de Terceiros - Pessoa Física	18.267,00
Outros Serviços de Terceiros - Pessoa Jurídica	75.840,00
	Total: 276.500,00
CAPITAL	
Elemento de Despesa	R\$
Equipamentos e Material Permanente ⁴	140.000,00
TOTAL DO PROJETO PARA 3 ANOS	Total: 387.500,00

11. CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO

CUSTEIO (R\$)				
Elemento de Despesa	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Total
Diárias	9.470,00	4.833,00	8.834,00	23.137,00
Material de Consumo	55.000,00	44.013,00	33.509,00	132.522,00
Passagens e Despesas com locomoção	6.040,00	5.346,00	15.348,00	26.734,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Física	7.490,00	3.388,00	7.389,00	18.267,00
Outros Serviços de Terceiro - Pessoa Jurídica	26.000,00	24.920,00	24.920,00	75.840,00
Total:	104.000,0	82.500,00	90.000,00	276.500,00
CAPITAL (R\$)				
Elemento de Despesa	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Total
Equipamentos e Material Permanente	140.000,00	-	-	-

⁴ Recurso a ser repassado pela FUNDECT

12. BIBLIOGRAFIA

- AKINPELU D.A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**. v.72, n.3, p. 286-7. 2001.
- ALEXANDER-LINDO RL, MORRISON EY, NAIR MG. Hypoglycaemic effect of stigmast-4-en-3-one and its corresponding alcohol from the bark of *Anacardium occidentale* (cashew). **Phytother Res.**, v.18, n.5, p.403-407, 2004.
- ALMEIDA, P.de A. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998, 464p.
- ALONSO-AMELOT, M. E. Bioassay Employing Cereal Beetle Pests. In: UNIVERSIDAD DE CHILE. **IFS Workshop on Methods of Bioassay**. Santiago: Universidad de Chile. 1995. 35p.
- ANUALPEC, 2003**. Anuário da Pecuária Brasileira: FNP. São Paulo: Diário Verde, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA). **Seed vigor testing handbook**. Leaning: 1983. 88p. (Contribution, 32).
- BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1976. 326p.
- BIANCHETTI, A.; ROSSI, L. M. B.; TEIXEIRA, C. A. D.; MARTINS, E. P. **Produção de mudas de espécies florestais**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1998. 24p. (EMBRAPA-CPAF Rondônia. Circular Técnica, 34.).
- BRANDÃO, M.; LACA-BUENDIA, J.P. Folhas, flores, frutos e sementes do Cerrado e sua utilização em arranjos ornamentais. **Informe Agropecuário**, v. 6, n.61, p.4-8, 1991.
- CHAVES, J. C. M.; CAVALCANTI JUNIOR, A. T. C.; CORREIA, D.; SOUZA, F. X. de; ARAÚJO, C. A. T. **Normas de produção de mudas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 37p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 41).
- COMPANHIA ENERGÉTICA DE SÃO PAULO (São Paulo, SP). **Manual de produção de mudas de essências florestais nativas**. São Paulo, 2000. 55p., anexos. (CESP. Série Divulgação e Informação, 244).
- CONSOLI, R. A. et al. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência das larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 83, n. 1, p. 87-93, 1988
- CONSOLI, R A G B; LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, editora da Fundação Oswaldo Cruz, 1994.
- CONTE, C. **Ação aleloquímica de óleos essenciais de plantas aromáticas sobre o gorgulho do milho Sitophilus zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculionidae)**. Campo Grande: Uniderp 22f. 2001. (Trabalho Final de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas).

CONTE, C. ; PILIZARDO, V. C. L. ; FAVERO, S; RESENDE, U. M. Ação repelente de extratos de anonáceas sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). In: ENCONTROS DE BIÓLOGOS DO CRBio-1 (SP, MT, MS), 11., 2000. São Pedro. **Resumos...** São Pedro, CRBio-1, 2000. p.58.

CONTE, C. O. ; FAVERO, S. Toxicidade e repelência de óleos essenciais de menta e capim limão para o gorgulho do milho. **Horticultura brasileira**. v. 19. (suplemento). p. 243. 2001.

DAVIS, P. **Aromoterapia**. São Paulo: Martins Fontes. 1996. 507p

FARIAS, A.R.N. Principais pragas e seu controle. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (Cruz das Almas, BA). Instruções Práticas para o cultivo da mandioca. Cruz das Almas, BA: 1993. (EMBRAPA-CNPMPF. **Circular Técnica**, 19, p.42-52, 1993.

FAVERO, S; CONTE, C. O. Potencial de extratos de folhas de *Duguetia furfuracea* no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). IN: ENCONTRO DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIDERP, 2., 2000, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande. Uniderp, 2000. p.135-136.

FAVERO, S. ; LIMA, J. O. G. . Ação do hospedeiro sobre a toxicidade de inseticidas no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) . In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 23., 2000, Uberlândia. CD-Rom do Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 23.. Uberlândia : Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2000.

FERNANDES,W.D. et al. Avaliação do efeito deterrente de alguns extratos vegetais sobre *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) e, condições de laboratório. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14, Piracicaba, 1993. **Resumos...** Piracicaba: Sociedade Entomologica do Brasil, 1993, p.573.

FINNEY, D. J. **Probit Analysis**. 3 ed. London: Cambridge Press. 1971, 338p.

FRANCA, F. et al. An evaluation of the effect of a bark extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) on infection by *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*. **Rev Soc Bras Med Trop.**, v.26, n.3, p.151-5. 1993.

FRANCA, F.; LAGO, E. L.; MARSDEN, P. D. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in an endemic area of Bahia, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop.**,v.29, n.3, p.229-32. 1996.

FRANÇA, F.; LAGO, E.L.; MARSDEN, P.D. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in an endemic area of Bahia, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop.**, v.29, n.3, p.229-232, 1996.

FRANCO, O; SILVA-LIMA, D M. Alguns aspectos das atividades contra filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e doenças Tropicais**, v.19, p.73-89, 1967.

FOSTER, A.S. **Practical plant anatomy**. New York, D. Van Nostrand, 1966. 228p.

GALLO et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 2002.

GONÇALVES, J. L. et al. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **J Ethnopharmacol**. 2005 May 2; [Epub ahead of print]

GRAINGE, M.; AHMED, S. **Handbook of plants with pest-control properties**. John Wiley & Sons, Inc.. 470 p, 1988
GUERRA, M. S. **Receituário caseiro**. Brasília: EMBRATER, 1985, 166p.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry** , v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HEBLING, M. J. A. Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.86, p.253-256, 1996.

HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. **Chemical Control of Bemisia- management and application**. In: GERLING, D. & RICHARD, T. MAYER (eds.) *Bemisia: Taxonomy, biology, control and management*. Intercept, 1995. p.537-556.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Handbook of vigour test methods**. Zurich, 1995. 117p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York. McGraw-Hill Book Company Inc. 1940

KAMTCHOUING P, SOKENG SD, MOUNDIPA PF, WATCHO P, JATSA HB, LONTSI D. Protective role of *Anacardium occidentale* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. **J Ethnopharmacol**. v.62, n.2, p.95-9, 1998.

KUBO J.; LEE, J. R.; KUBO, I. Anti-Helicobacter pylori agents from the cashew apple. **J Agric Food Chem**. v.;47, n.2, p.533-537, 1999.

KUDI, A. C. et al. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. **J Ethnopharmacol**, v.67, n. 2, p. 225-8, 1999.

LANS C, HARPER T, GEORGES K, BRIDGEWATER E. Medicinal plants used for dogs in Trinidad and Tobago. **Prev Vet Med**. v.45, n.3-4, p.201-20. 1999.

LAURENS, A et al. Study of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. **Ann Pharm Fr.**, v.40, n.2, p.143-6. 1982.

LAURENS A.; BELOT, J.; DELORME, C. Molluscicidal activity of *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). **Ann Pharm Fr.**, v.45, n.6, p.:471-3. 1987.

LIMA, C. A. de A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P. de A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v..20, n.3, p.358-362. 2000

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUNA, J. V. U. **Produção de mudas frutíferas tropicais**. Salvador, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S. A. - EBDA, 1991, 77p. (EBDA. Circular técnica, 01), Salvador-BA.

MELO, C. A. A. et al. Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. **Environ Mol Mutagen**; v.41, n. 5, p. 360-9, 2003.

MENDES, N. M. et al. Atividade moluscicida da mistura de ácidos 6-n-alkil salicílicos (ácido anacárdico) e dos seus complexos com cobre (II) e chumbo (II). **Rev Soc Bras Med Trop**; v. 23, n. 4, p. 217-24, 1990.a

MENDES N. M. et al. Molluscicide activity of a mixture of 6-n-alkyl salicylic acids (anacardic acid) and 2 of its complexes with copper (II) and lead (II). **Rev Soc Bras Med Trop.**, v.23, n.4, p.217-24. 1990.b

MOTA ML, THOMAS G, BARBOSA FILHO JM. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. **J Ethnopharmacol.**, v.13, n.3, p.289-300, 1985.

MUROI, H.; KUBO, A.; KUBO, I. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.41, n.7, p.1106-1109, 1993.

ODALIA-RÍMOLI, A. J. et al. **Biodiversidade, biotecnologia e conservação genética em Desenvolvimento Local. Interações**, Campo Grande, UCDB, v. 1, n. 1, p. 21-30, 2000.

OJEWOLE JA. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* Linn (*Anacardiaceae*) stem-bark extracts in rats. **Methods Find Exp Clin Pharmacol.**, v.25, n.3, p.199-204, 2003

OJEWOLE JA. Potentiation of the antiinflammatory effect of *Anacardium occidentale* (Linn.) stem-bark aqueous extract by grapefruit juice. **Methods Find Exp Clin Pharmacol.**, v.26, n.3, p.183-188, 2004

OLAJIDE, O. A. et al. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. **J Ethnopharmacol.**, v.95, n.2-3, p.139-142, 2004.

POTT, A.; POTT, V. J. Plantas do Pantanal. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **Centro Pesquisa Agro do Pantanal Corumbá. EMBRAPA**. 1994. p. 320.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. Produtos naturais ajudam o agricultor. **Cultivar**. Ano 2, n.18, p.38-41. 2000.

PREMPREE, P; SUKHAPANTH, N. Phytochemical toxicity of the crude the extract from *Derris elliptica* Benthham on mosquito larvae. **Journal of the Science Society of Thailan**, v.16, p.133-139, 1990.

PUSHPALATHA, E; MUTHUKRISHNAN, J. **Indian J. Malariol**. v.32, n.1, p.14-23, 1995.

ROEL, A.R. et al. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* (Swartz) (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v,29, p.799-808, 2000.

ROTH, I. **Microtécnica Vegetal**. Caracas: Universidade Central da Venezuela. 1964. p. 75

RUNNIE I. et al., Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. **J Ethnopharmacol.** v.92, n.2-3, p.311-316. 2004

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura de praguicidas eficientes e seguros ao ambiente** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. p.46. (EMBRAPA-CNPMA. Série documentos,12)

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa/CNPMA. 2000 46p.

SANTOS et al., Avaliação de substâncias de origem vegetal no controle de pragas de grãos armazenados. **Pesquisa em andamento** CNPMS-EMBRAPA. 1998. disponível em <<http://www.cnpms.embrapa.br/pesq1998.html>>. acessado em 01.11.2001.

SANTOS FILHO, D. et. al. Atividade antibacteriana de extratos vegetais. **Rev. Ciênc. farm.** São Paulo, v. 12, p. 47-69, 1990.

SARTÓRIO, M. L.; TRINDADE, C.; REZENDE, P.; MACHADO, J. R. **Cultivo orgânico de plantas medicinais**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000, 260p.

SAXENA, R C; HARSHAN, V; SAXENA, A; KUMAR, M L. **J. Am. Mosq. Control. Assoc.**, v.9, n.1, p.84-87, 1993.

SAXENA, R.C. Inseticides from Neem. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R; MORAND, P. (Ed) **Inseticides of plant origin**. Washington: ACS, 1989. cap 9, p 110-129

SAXENA, R.C.; EPINO, P.B. Azadirachtin as growth inhibitor of leafhopper and planthopper pests of rice. In:

SCHMOURLO G, MENDONCA-FILHO RR, ALVIANO CS, COSTA SS. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **J Ethnopharmacol.**, v.15, n.96, p.563-568, 2004.

SCHMOURLO G. et al. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **J Ethnopharmacol.** 2005 Jan 15;96(3):563-8. Epub 2004 Nov 25.

SCHMUTTERER, H. Potencial of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal of Insect Physiology**, v. 34, n.7, p. 713-9, 1992.

SILVA, A.C. da. **Efeitos inseticida, deterrente e supressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedmann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste***

orseis (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae), em laboratório. Lavras, 1990. 129p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras. 1990.

SIMÕES, C.M.O ; SPITZER, V. Óleos voláteis. p. 387-416. In: SIMÕES, C.M.O.; SHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/UFSC, 2000.

SINGH B, KALE RK, RAO AR. Modulation of antioxidant potential in liver of mice by kernel oil of cashew nut (*Anacardium occidentale*) and its lack of tumour promoting ability in DMBA induced skin papillomagenesis. **Indian J Exp Biol.**, v.42, n.4, p. 373-377, 2004.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F.J. **Biometry**. 3 ed. New York: Freeman. 1995. 887p.

SOUZA C.P. et al. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como moluscicida alternativo.. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, n.34, v. 5, p. 459-66, 1992

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de extratos aquosos de Meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v.50, n.2, p.173-179, 2000.

SUKUMAR, K; PERICH, M J; BOOKAR, L R. **J Am. Mosq. Control. Assoc.**, v.7, n.2, p.210-237, 1991.

VIEIRA, P. C; HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F. **Princípios Ativos de Plantas Superiores**. 1. ed. São Carlos: Editora da Universidade Federal de São Carlos, 2003, cap. 2, p. 43-58

WANG D. ET AL. Ovipositional preference and development of *Bemisia argentifolii* (Homóptera: Aleyrodidae) in relation to alfafa. **Journal of Economic Entomology**, v.89, n.4, p. 870-876, 1996.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos, biotecnologia, patente**. Chapecó: Argos, 2001. 523 p.