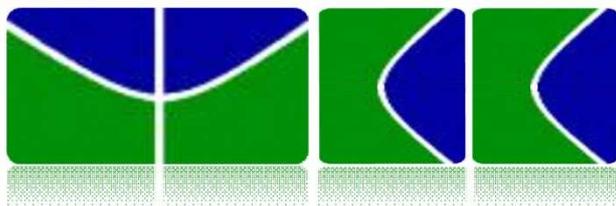


Trabalho de Conclusão de Curso

Licenciatura em Ciências Naturais



**VARIAÇÃO NA QUALIDADE DE FOLHAS DE
GUAPIRA GRACILIFLORA (NYCTAGINACEAE)
AO LONGO DO SEU DESENVOLVIMENTO E
EFEITO NA HERBIVORIA.**

Diogo Victor Alves de Oliveira

Orientador: Flavia Nogueira de Sá

Universidade de Brasília

Faculdade UnB Planaltina

Fevereiro de 2013

DEDICATÓRIA

A minha família;

A razão do meu esforço e do meu viver.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por essa grande oportunidade de ter me graduado em uma universidade reconhecida pela sua excelência.

Agradeço a minha família pelo incentivo de estudar cada vez mais e por me apoiar em cada decisão acadêmica, por ter me sustentado em momentos que eu quis desistir do curso, por ter me apoiado financeiramente no início do curso e por outras tantas coisas em que tive apoio da família

Agradeço aos meus professores, desde o ensino médio, onde a professora Luciana Vieira, me despertou a paixão pela biologia e pela química. Agradeço aos professores de maneira integral, especialmente aos doutores Elizabeth M. Mamede da Costa, Dulce Maria Sucena da Rocha, a minha orientadora Flavia Nogueira de Sá, a Sarah Christina Oliveira, Fabian Borghetti e aos diretores do IB, instituto de Biologia da UnB, por ter disponibilizado os laboratórios para que eu desenvolvesse minha pesquisa.

Aos meus amigos Amanda Andrade, Dyego Costa, Natalia Araujo, Thainá Caroline, Francinayla (Naylinha), Elves Salgado, Amanda Rafaela e tantos outros amigos que fiz na graduação, Agradeço a Adriana Martins Onghero, Jessica Campos Sabino, Adriano Paiva, Camilo Lima, Denílson Guilherme e aos outros “Lagarteiros” por me ajudarem durante o ProIC e durante a confecção deste trabalho.

VARIAÇÃO NA QUALIDADE DE FOLHAS DE *GUAPIRA GRACILIFLORA* (NYCTAGINACEAE) AO LONGO DO SEU DESENVOLVIMENTO E EFEITO NA HERBIVORIA.

Diogo Victor Alves de Oliveira¹

Flavia Nogueira de Sá²

Resumo

Para as plantas, perder tecido vegetal tem conseqüências sérias no seu desenvolvimento. Como respostas, esses organismos desenvolveram uma série de estratégias defensivas de natureza física (dureza foliar, presença de tricomas, entre outras), química (presença de metabólitos secundários e quantidade de água) e biológica (associação com formigas e outros insetos por exemplo) contra a herbivoria. Este estudo tem por objetivo verificar se existe alguma variação defensiva em folhas de *Guapira graciliflora* ao longo de seu desenvolvimento, avaliando os aspectos físicos (como dureza, área foliar, massa específica e conteúdo de água), composição química (presença de metabólitos secundários) herbivoria em campo e a palatabilidade com insetos generalistas. As folhas maduras apresentaram mais estratégias defensivas do que as folhas novas, tais como presença de vários tipos de tanino, alcalóides, fenóis e flavonóides, além de apresentar dureza foliar cerca de 19 vezes maior que as folhas novas.

Palavras-chave: Nyctaginaceae, metabólitos secundários, herbivoria, cerrado.

¹Graduando em Ciências Naturais. Discente, Faculdade UnB Planaltina, FUP. Planaltina, Brasília. <diogo_lolindir@hotmail.com>.

²Doutora em Ecologia. Docente, Faculdade UnB Planaltina, FUP. Planaltina, Brasília. <fnasa@unb.br >.

1. INTRODUÇÃO

As plantas surgiram no registro fóssil ao longo do devoniano, sendo que no devoniano superior e carbonífero, já era possível encontrar evidências de plantas o com porte das árvores atuais. Nessa mesma era, o carbonífero, houve o surgimento e diversificação das várias ordens de insetos (Schoonhoven et al. 1998). Atualmente, os insetos integram aproximadamente 57% das espécies viventes. Dessas, quase metade é herbívora (Strong et al. 1984).

Para as plantas, perder tecido vegetal pode ter conseqüências sérias no seu desenvolvimento. Para isso as plantas desenvolveram inúmeros mecanismos de defesa contra os herbívoros (Edwards e Wratten 1980). Exemplos comuns são as defesas químicas, como a produção de metabólitos secundários, que podem, entre outros efeitos, diminuir a palatabilidade e a digestibilidade das folhas para os herbívoros, reduzir a produção de hormônios que inibem ou aceleram o desenvolvimento de uma larva (Coley e Barone 1996). Plantas também podem apresentar defesas físicas ou mecânicas como dureza ou presença de tricomas das folhas (Coley et al. 2006). Ou podem se defender através de outros organismos, como por exemplo, formigas que recebem algum recurso das plantas e acabam protegendo as mesmas contra os herbívoros (Dáttilo et al. 2009).

O metabolismo de um organismo é o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário. Metabolismo primário compreende as reações envolvidas em vias metabólicas essenciais para a manutenção da vida vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração, o transporte de solutos (Raven 1999). Por isso estão distribuídos em todos órgãos vegetais. Esse é o caso das reações produtoras de aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, carboidratos e clorofila.

O metabolismo secundário, por outro lado, origina compostos que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas por não influenciarem diretamente no seu crescimento e desenvolvimento. Apesar disso, esses compostos têm grande importância ecológica, protegendo a planta de agentes abióticos, como estresse hídrico, baixas temperaturas, incidência de UV, ou contra ataque biológico, tais como herbívoros, agentes patológicos, competição interespecífica (Raven 1999, Di Stasi 1996). Dentre os diversos compostos secundários podem-se citar as principais classes de compostos químicos: os fenóis, terpenos e alcalóides.

Fenol é quimicamente todo composto que possui pelo menos um anel aromático contendo um grupo hidroxila (-OH) no lugar de algum hidrogênio da cadeia (Lehninger et al. 2005). Destacam-se os flavonóides, taninos, ligninas, ácido caféico e o ácido ferúlico (Raven 1999). Podem desempenhar diversas funções nas plantas, os flavonóides são aos compostos fenólicos responsáveis pela a criação de odores e de sabor em diversas plantas, atraindo muitas vezes polinizadores e dispersores de semente em potencial. Também participam da proteção da planta contra a radiação UV e contra patógenos diversos; Entre as diversas classes de flavonóides podemos destacar os isoflavonóides ou fitoalexinas, por sua ação inseticida e antipatogênica (Taiz e Zeiger 2004). Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água, são responsáveis pela adstringência de muitos frutos. Taninos são defesas contra pragas, pois eles se ligam a proteínas digestivas dos insetos (Taiz e Zeiger 2004).

Terpeno é todo composto formado por polímeros de Isopreno (5C), e assim como os outros polímeros são classificados de acordo com a quantidade de moléculas de Isopreno. Dessa classe química podemos destacar os monoterpenos, o diterpenos e os triterpenos (Lehninger et al. 2005).

Os monoterpenos ou terpenos, em geral, são denominados como óleos essenciais ou essências, devido a sua grande volatilidade, tem função tanto de atrair os polinizadores e dispersores quanto de repelir principalmente os insetos (piretróides) (Raven 1999). Um exemplo de óleo essencial com ação inseticida é o óleo da citronela, presente em algumas plantas aromáticas, como o capim limão (*Cymbopogon citratus*, Poaceae) e o eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*), sendo utilizado para a fabricação de repelentes contra mosquitos e borrachudos (Menezes, 2005). Os diterpenos se destacam pela ação na germinação das plantas principalmente na formação de gerbelina. Os triterpenos destacam-se por serem responsáveis por formarem os esteróides, assim como participarem da formação dos hormônios esteróides em animais, plantas e insetos (Taiz e Zeiger 2004).

Os alcalóides são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel. Essa classe de metabólito secundário é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos (Di Straci 1996). Talvez o caso mais famoso seja a execução do filósofo grego Sócrates, condenado a ingerir cicuta (*Conium maculatum*), uma fonte do alcalóide coniina.

Estudos mostram que as folhas de diferentes espécies de plantas apresentam variações intra-específicas em sua composição química, quantidade de água, e dureza foliar, durante seu desenvolvimento ontogenético. Tal variação pode ser uma resposta adaptativa à luminosidade e à pressão de herbivoria (Coley 1998), folhas mais novas em sua maioria, apresentam grande concentração de nutrientes e por isso são mais predadas se comparadas com as folhas mais maduras (Coley e Barone 1996). Como resposta a herbivoria, as folhas mais novas, que apesar de investirem pouco em produção de defesas físicas como paredes celulares mais espessas, apresentam grande concentração de metabólitos secundários (Sinimbu 2012). Por exemplo, experimentos em *Xylopia aromatica* e *Diympanax vinosum* mostram que suas folhas novas possuem em média uma grande concentração de nitrogênio e água se comparado as folhas mais maduras, que por sua vez possuem uma grande concentração de carboidratos e de taninos (Varanda et al. 2008, Pais & Varanda 2003, Pais 1998).

O Cerrado é um bioma que apresenta diversas fitofisionomias, com vegetação semelhante à de savana, com gramíneas, arbustos e árvores esparsas (Oliveira-Filho e Ratter 2002). Apresenta clima tropical sazonal, com inverno seco e verão chuvoso. Os solos são muito intemperizados, devido à alta lixiviação e possuem baixa fertilidade natural. Possui elevado conteúdo de alumínio, baixa disponibilidade de nutrientes, como fósforo, cálcio, magnésio, potássio, matéria orgânica, zinco, argila, compondo-se de caulinita, goethita e gibbsita, conhecido como latossolo (Motta et al. 2002.). Dadas as características do solo pobre, e o grande número de herbívoros do cerrado, Silva e Batalha (2011), defendem que as plantas no cerrado devido ao fator solo apresentam folhas mais duras, com pouca água e pouco nitrogênio, folhas com grande concentração de compostos fenólicos e tricomas em muitos casos .

A família alvo deste trabalho, Nyctaginaceae, compreende 390 espécies tropicais, distribuídas em trinta gêneros (Furlan 2008). A distribuição geográfica da família é essencialmente tropical (Furlan, 1996 apud Severi 2007) No Brasil ocorrem dez gêneros e aproximadamente setenta espécies, com ampla distribuição no território e pertencentes especialmente aos gêneros *Guapira*, *Neea*, *Boerhaavia*, *Bougainvillea*, *Mirabilis*, *Pisonia* e *Andradea* (Furlan 2008). Apresenta hábito arbóreo, arbustivo ou herbáceo com folhas simples, inteiras, geralmente opostas, Inflorescências terminais ou axilares, ramos da inflorescência verticilados, sub-verticilados, opostos e geralmente patentes, ou alternos e geralmente oblíquos, ramos finais em cimeiras trímeras ou

aglomeradas, cacho ou cimeira, a flor gamossépala, actinomorfa, ovário súpero e fruto do tipo antocarpo, que é uma característica marcante na família (Furlan 2008).

No Cerrado as nictagináceas possuem uma maior concentração de nitrogênio em suas folhas se comparado a outras famílias de plantas (Meloni et al. 2012). Estudos mostram que as folhas novas apresentam em torno de 5 a 6 % de nitrogênio e ao longo de seu desenvolvimento, essa concentração tende a diminuir até estabilizar com 4 % de nitrogênio em suas folhas (Meloni e Varanda 2008).

1.2. OBJETIVOS

O objetivo principal do presente trabalho foi verificar se existe alguma variação na composição defensiva das folhas de *Guapira graciliflora*, sejam elas defesas físicas ou químicas, ao longo de seu desenvolvimento.

Mais especificamente, verificamos se há diferença entre folhas jovens e em folhas maduras em função:

1. De características físicas tais como dureza, massa específica e conteúdo de água.
2. Da composição química de compostos secundários.
3. De palatabilidade a um modelo de herbívoro, a larva de *Spodoptera frugiperda*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE COLETA.

As folhas de *Guapira graciliflora* foram coletadas na Estação Ecológica Águas Emendadas (ESECAE). Com uma área total de aproximadamente 10.500 ha, localiza-se em Planaltina, na porção nordeste do Distrito Federal (15°32'-15°38'S e 47°33'-47°37'W), clima tropical seco com duas estações bem distintas, a seca e a chuvosa, abrange em seu território, partes de três grandes bacias hidrográficas brasileiras (Bacia do Rio São Francisco, Bacia dos Rios Araguaia e Tocantins, e Bacia do Rio Paraná) e apresenta vários tipos de solo (solos antigos, solos jovens e solos relacionados aos cursos d'água). A ESECAE abriga muitas das fitofisionomias presentes no Cerrado, entre elas as formações campestres (campos limpo e cerrado), cerrado sensu stricto, matas de galeria e veredas (Marinho-Filho et al. 2005).

2.2. COLETA DAS FOLHAS

Foram coletadas folhas de *Guapira graciliflora* (20 matrizes marcadas) e ainda em campo, as mesmas foram classificadas como jovens ou maduras. Foram classificadas como jovens aquelas folhas localizadas acima dos dois primeiros nós mais apicais dos galhos, se fossem mais tenras e apresentassem coloração em tons de ferrugem e com uma leve transparência. As folhas maduras localizavam-se em toda a planta (mesmo em partes mais apicais, quando folhas jovens não estavam presentes), eram claramente mais duras (ver resultados), possuíam sempre coloração verde bandeira e com presença mais evidente de cera na superfície foliar.

Logo após as coletas, as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos, guardadas em recipiente térmico com gelo e levadas ao laboratório em no máximo três horas.

2.3. ANÁLISE FÍSICA DE FOLHAS

Ao chegar ao laboratório à massa fresca das folhas coletadas foi aferida em balança analítica (Shimadzu AY220, d= 0,1 mg). Em seguida as folhas foram colocadas em estufa individualmente a 50°C por 72 horas. Desta forma, foram acessadas as seguintes características físicas das folhas:

Dureza foliar: A dureza de folhas frescas, de ambas as idades, foi medida através do uso do Penetrômetro Chatillon CATL.516-500, ponteira de 0,5 cm de diâmetro. Duas medidas foram feitas (uma em cada lado da nervura principal da folha), a partir da superfície abaxial.

Área foliar específica = área foliar/ MS, onde MS é a massa das folhas secas .

Conteúdo de água = (Massa Seca – Massa Fresca) x 100/Massa Fresca.

A comparação dos parâmetros físicos medidos em folhas jovens e em folhas maduras foi feita através do teste de ANOVA por permutação (usando 9.999 permutações), usando o programa estatístico Past.

2.4. ANÁLISE DE COMPOSTOS QUÍMICOS DE FOLHAS

2.4.1. EXTRAÇÃO

Para análise fitoquímica das folhas, foram realizadas quatro extrações sequenciais, usando quatro diferentes solventes. Os solventes foram selecionados de forma que os extratos tivessem diferentes graduações de polaridade, partindo de um solvente mais apolar para um mais polar, seguindo a seguinte ordem: Hexano, Acetato de Etila, Etanol e Água.

Extração de metabolitos: Folhas usadas para a extração foram acondicionadas no freezer por pelo menos 48 horas. Após congeladas, as folhas foram secas em liofilizador (EC Micromodulyo).

As folhas secas foram trituradas em moinho (Marconi, moinho MA 048) e novamente pesadas em balança analítica. Para as extrações utilizou-se a proporção de 1:10 (g:ml) de material foliar e solvente, respectivamente. Para a extração foi utilizada 28 gramas de folhas maduras secas e 28 gramas de folhas novas secas. A extração ocorreu submetendo-se o material com cada solvente a ultrassom (Soniclean 6) por 25 minutos, em dois ciclos .

Após cada sonicação, o extrato foi filtrado a vácuo, em papel filtro de 12,5 de diâmetro, e seu volume foi reduzido em rota evaporador (Marconi, MA 120), com exceção do extrato aquoso que foi liofilizado por 48 horas (EC Micromodulyo).

2.4.2. DETECÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS

Para a detecção das principais classes de compostos secundários, foi utilizado o método de cromatografia de placa delgada de sílica (Alugram XTRA sílica gel 60), associado a utilização de reveladores específicos. Os reveladores das principais classes

de compostos secundários foram selecionados segundo a metodologia de escaneamento de Atale et. al (2011), descritos brevemente a seguir:

TANINOS.

Spray de cloreto férrico 1%, diretamente na placa de TLC.

FENÓIS.

Spray do reagente Folin-Ciocalteu seguido de spray de Na_2CO_3 10% diretamente na placa de TLC.

DITERPENOS.

Spray de acetato de cobre 10% diretamente na placa de TLC.

FLAVONÓIDES.

Spray de amônia 10% diretamente na placa de TLC.

ALCALÓIDES

Spray de H_2SO_4 : Etanol (1:9) , diretamente em placa de TLC/UV $_{254}$, submetida a fase móvel em Tolueno: Acetato de Etila: Dietilamina (7:2:1), e aquecida a 100°C , durante período de 3 a 5 minutos.

A presença de cada um dos compostos químicos foi detectada pela mudança de coloração das bandas em relação a banda controle (sem a presença de revelador).

2.4.3. IDENTIFICAÇÃO PRELIMINAR DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

As substâncias reveladas foram preliminarmente identificadas através do cálculo do índice de retenção (Rf). O Rf é um parâmetro freqüentemente usado em cromatografia. Na cromatografia de camada delgada, o Rf é função do tipo de suporte (fase estacionária) empregado e da fase móvel. Ele é definido como a razão entre a distância percorrida pela mancha do componente e a distância percorrida pela fase móvel.

$$Rf = dc / ds$$

Onde:

dc = distância percorrida pelos componentes da mistura.

ds = distância percorrida pela fase móvel.

2.5. PALATABILIDADE DE FOLHAS JOVENS E MADURAS

Para testar a palatabilidade de folhas jovens e maduras de *G. graciliflora*, foi utilizado como modelo de herbívoro as lagartas generalistas de *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) em terceiro instar.

Antes do início do experimento, as lagartas de *S. frugiperda* permaneceram sem comer durante 24 horas. Após esse período, cada lagarta foi pesada e individualizada em potes plásticos e foi oferecido a cada uma delas uma folha jovem ou uma folha madura, recém coletada em campo. As lagartas foram mantidas em contato com as folhas de *G. graciliflora* por 48 horas e após esse período, foram pesadas novamente. O ganho ou perda de peso foi calculado.

A comparação da alteração de peso de lagartas que tiveram contato com folhas jovens e com folhas maduras foi feita através do teste de Mann Whitney, usando o programa estatístico Bioestat 5.0.

2.6. DETERMINAÇÃO DA TAXA DE HERBIVORIA EM CAMPO

Durante meses de grande atividade de insetos herbívoros (dezembro e janeiro), foi feita a estimativa da herbivoria em campo das folhas de 20 indivíduos de *G. graciliflora*. A estimativa foi feita visualmente com classificação em categorias: 0 (não danificada, 0%), 1 (1 a 5% de dano a folha), 2 (6 a 10% de dano a folha), 3 (11 a 25% de dano a folha), 4 (26 a 50% de dano a folha), 5 (de 51 a 75% de dano a folha) e 6 (76 a 100% de dano a folha)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. DEFESAS FISICAS

Análise de aspectos físicos de folhas jovens e maduras de *G. graciliflora* mostrou que folhas jovens possuem significativamente mais água do que folhas maduras ($p = 0,0001$). As folhas novas possuem cerca de 20% a mais de água se comparadas com as maduras (Figura 1).

Resultados consoantes com Pais e Varanda (2003) e Varanda et al. (2008) que mostrou que as folhas novas de *Didymopanax vinosum* e *Xylopia aromatica*, assim como as folhas de *G. graciliflora*, apresentam mais água que as folhas maduras.

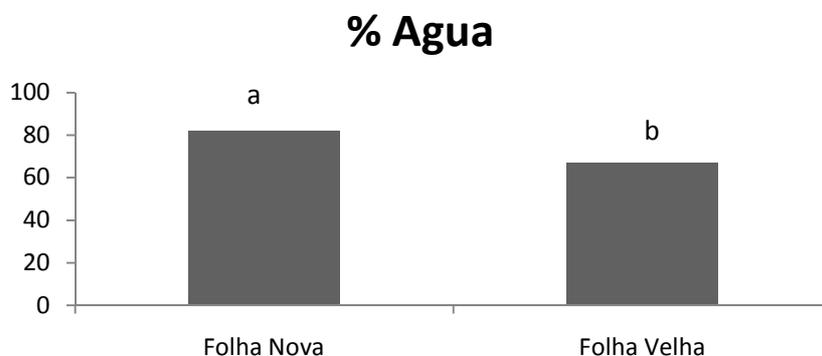


Figura 1: Porcentagem de água contida nas folhas de *G. graciliflora* em diferentes idades.

Além de menor conteúdo de água, folhas maduras também são significativamente mais duras do que folhas jovens ($p < 0,0001$). Folhas maduras são aproximadamente 19 vezes mais duras que as folhas jovens (Figura 2).

Dureza foliar

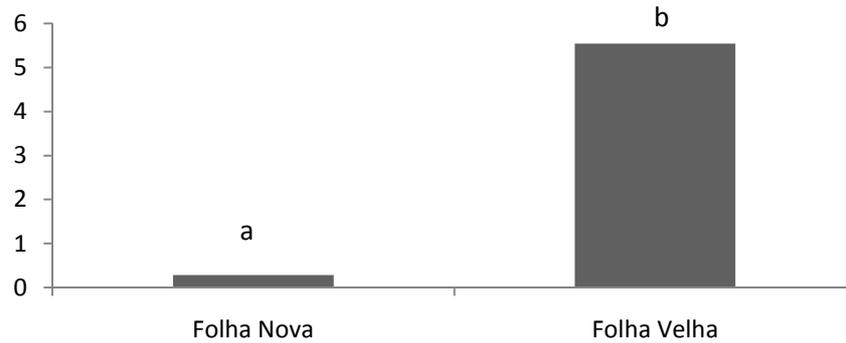


Figura 2: dureza foliar em Oz (onça) de folhas de *G. graciliflora* de diferentes idades.

Com relação a área foliar específica, as folhas novas apresentam cerca de 100 g/cm² a mais do que a folha madura ($P < 0,0001$), refletindo que a folha nova tem a massa foliar mais concentrada que a folha madura (Figura 3).

Área Foliar Específica

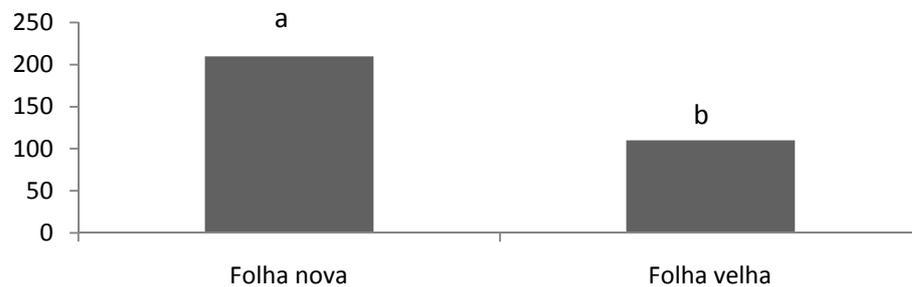


Figura 3: área foliar específica das folhas de *G. graciliflora* em g/cm². (a) folha nova, (b) folha madura.

Os dados contidos nas figuras 1, 2 e 3, mostram que, além de possuírem menos água e massa específica menor, as folhas maduras são muito mais duras que as folhas novas. Coley e Barone (1996) afirmam que as folhas de plantas nos trópicos tendem a ser mais duras quando velhas (maduras) do que quando jovens. O menor conteúdo de água em folhas maduras também pode sugerir que os tecidos estruturais encontrados nas folhas dessa mesma idade devem ser mais ativos, uma vez que à medida que a quantidade de água decresce, a chance de aparecer compostos estruturais, como lignina, fibras e celulose cresce, a presença desses compostos proporciona a folha maior dureza (Angelo e DalMolin 2007). Silva e Batalha (2011) apresentam em seu estudo que plantas com menores áreas foliares específicas apresentaram também mais folhas duras, com menos nitrogênio (alcalóides, por exemplo), com mais tricomas e com taninos. Hendrik e Jong (1999) dizem que folhas com área foliar específica baixa, possuem alta concentração de metabolitos secundários e paredes celulares mais espessas,

proporcionando maior dureza, de modo que os tecidos foliares são mais estruturados e por isso a folha pode ser menos espessa, dados consoantes aos resultados apresentados

3.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Até o presente momento, não foi possível analisar os extratos aquosos obtidos de folhas de *G. graciliflora*. Serão apresentados, portanto, resultados dos demais três extratos produzidos.

Analisando-se somente a presença dos compostos secundários investigados nos extratos de *G. graciliflora*, em três diferentes polaridades, pode-se observar que folhas jovens e maduras não apresentam diferenças marcantes em função da presença de diferentes classes de compostos secundários detectados (Tabela 1).

Tabela 1: relação das substâncias do metabolito secundário investigados em três extratos de folhas jovens (JV) e folhas maduras (MD) de *G. graciliflora* - (+) indica presença e (-) ausência

Extrato	Flavonóide		Tanino		Terpeno		Fenol		Alcalóide	
	JV	MD	JV	MD	JV	MD	JV	MD	JV	MD
Hexano	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ac Etila	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Etanol	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

No entanto após realizar as identificações preliminares de cada substância encontrada pelo cálculo do índice de retenção pode-se verificar que folhas de ambas as fases desenvolvimento se diferem em relação à composição de substâncias encontradas (Tabela 2).

Tabela 2: relação de RFs dos metabólitos secundários investigados em extratos de três diferentes polaridades obtidos em folhas jovens (JV) e folhas maduras (MD) de *G. graciliflora*.

Extrato	Flavonóide		Tanino		Terpeno		Fenol		Alcalóide	
	JV	MD	JV	MD	JV	MD	JV	MD	JV	MD
Extrato Hexano RF=4 cm	-	-	0,8	0,55 0,875	0,85	0,125	0,35 0,825 0,925	0,15 0,6 0,75 0,875	0,2225 0,335 0,545 0,7275	0,1 0,2 0,4 0,675
Extrato Acetato de Etila RF=4	-	-	0,65 0,9 1 1	0,15 0,175 0,5 0,525 0,675 0,875 0,95	0,675 0,825 0,575 0,25	0,875 0,35	0,375 0,45 0,725 0,8 0,65	0,025 0,075 0,15 0,45 0,65 0,85 0,925 0,95 0,775 0,325	0,207 0,375 0,575 0,75	0,15 0,25 0,375 0,625 0,775
Extrato Etanol RF=4	0,975	0,525 0,85	0,025 0,175	0,025 0,075 0,225 0,95	-	0,075 0,15 0,25 0,625	0,225 1	0,375	0,325 0,375 0,45 0,5 0,6 0,65	0,7

Os dados obtidos no presente trabalho indicam que as folhas maduras devem ser melhor defendidas quimicamente do que as folhas jovens devido ao maior número de substâncias do metabolismo secundário presentes em suas folhas. Esses dados estão de acordo com Coley e Barone (1996), que mostrou que o conteúdo nutricional e químico (metabólitos secundários) de folhas varia entre diferentes espécies e entre diferentes idades de folha, além de afirmar que folhas com rápida expansão, investem massivamente em metabólitos secundários e defesas físicas se comparado com as folhas mais novas. Meloni (2012) afirma que a medida que a água decresce nas folhas em expansão, compostos nitrogenados, assim como os alcalóides, se concentram. Varanda, Costa e Barosela. (2008) ainda afirma que em *X. aromatica* as folhas novas apresentam em sua fase jovem cerca de 10% a mais de água que a folha madura (expandida), decrescendo a medida que se expande, tal perda de água contribui para o aparecimento de taninos, este é mais freqüente em folhas maduras do que em folhas novas.

Dados não publicados de nosso grupo de pesquisa indicam que folhas jovens de diferentes espécies do gênero *Guapira*, levam menos do que 15 dias para se expandirem totalmente, por isso era esperado o maior investimento em defesas nas folhas mais maduras. Meloni (2012) em concordância afirma que as espécies *N.theifera* e *G. graciliflora*, apresentam expansão total das folhas jovem em aproximadamente 60 dias.

3.3. HERBIVORIA EM CAMPO

A herbivoria foi medida em meses de maior abundância de insetos (dezembro a janeiro, nessa estação) mostrou que as plantas apresentam uma taxa média de ataque por herbívoros de 6 a 10% e no mês de janeiro houve um leve aumento na taxa de herbivoria. Essa baixa taxa de herbivoria provavelmente se deve ao fato de não ter sido possível analisar folhas jovens em campo no período de análise, e como já foi mostrado anteriormente, as folhas maduras de *G. graciliflora* são mais bem defendidas quimicamente e fisicamente se comparadas as novas.

A atuação de taninos condensados e de alcalóides pode ter influenciado a baixa herbivoria, em concordância com Meloni (2012), que afirma que as espécies *N.theifera* e *G. graciliflora*, possuem herbivoria intensa nas primeiras semanas de desenvolvimento das folhas e essa herbivoria decresce à medida que as mesmas expandem e amadurece, tal fato se deve a presença principalmente de alcalóides

3.4. PALATABILIDADE DE FOLHAS JOVENS E MADURAS

Teste de palatabilidade em laboratório usando o modelo de herbívoro *S. frugiperda* mostrou que folhas maduras são menos palatáveis do que folhas jovens. Larvas que se alimentaram de folhas jovens tiveram a uma taxa de aumento de peso de 1,054, enquanto que larvas que se alimentaram de folhas maduras apresentaram uma taxa negativa (-0,013), além de 16% dos indivíduos amostrados não terem sobrevivido ao experimento. O baixo ganho de peso, associado à morte de algumas lagartas que consomem a folha madura, pode estar associado ao arsenal defensivo presente na folha madura, A presença dos taninos, conhecidos por tornar as proteínas vegetais indigeríveis e de alcalóides, vastamente conhecidos como tóxicos, pode ter influenciado negativamente o desempenho das lagartas. Tais condições extremas podem limitar o desenvolvimento ou restringir a sobrevivência dos herbívoros (Coley e Barone 1996; Coley 2006; Meloni 2012).

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, observa-se que as folhas maduras são mais bem defendidas que as folhas novas, a presença de diferentes tipos de metabolitos secundários é maior nas folhas maduras, como terpenos, flavonóides, alcalóides, taninos e fenóis, assim como maior dureza, menos água e massa foliar menos concentrada, mostrando de fato que as folhas de *G. graciliflora* possuem variação de composição química e proteção física ao longo do seu crescimento foliar.

Tais fatores em correlação contribuíram para a baixa palatabilidade das folhas maduras, mostrando que as folhas mais maduras (velhas) são menos palatáveis e até tóxicas para a lagarta generalista *Spodoptera frugiperda*, mostrando que é mais interessante para os herbívoros consumir as folhas mais novas, já que nessa etapa de seu desenvolvimento as folhas apresentam menos defesa a herbivoria.

Ademais, recomenda-se a avaliação dos extratos aquosos, quantização dos extratos secos, e utilização de outros reveladores mais específicos para os extratos, como por exemplo, utilizar o reagente de Dragendorff para revelação dos alcalóides, por revelar mais tipos de alcalóides e se possível utilizar outros métodos de cromatografia com a finalidade de classificar e determinar os compostos encontrados.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELO, A. C.; DALMOLIN, A. **Interações Herbívoro-Planta e suas Implicações para o Controle Biológico: Que tipos de inimigos naturais procurar?** In: PEDROSA-MACEDO, J. H.; DALMOLIN, A.; SMITH, C. W. *O Araçazeiro: Ecologia e Controle Biológico*. FUPEF. (2007).

ATALE N.; JAISWAL A.; CHHABRA A.; MALHOTRA U.; KOHLI S.; MOHANTY S.; RANI V. **Phytochemical and antioxidant screening of *Syzygium cumini* Seed Extracts: A comparative study**. Journal of Pharmacy Research, 4(12),4530-4532 (2011).

COLEY, P. D. **Effects of plant growth rate and leaf lifetime on amount and type of antiherbivore defense**. Oecologia 74: 531-536.(1998)

COLEY, P. D.; BARONE, J.A. **herbivory and plant defenses in tropical forests**. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 27: 305-35. (1996).

COLEY, P. D., BATEMAN, M. L.; KURSAR, T.A. **The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies**. Oikos, 115: 219-228. (2006).

DÁTTOLO, W.; MARQUES E. C.; FALCÃO, J. C. F.; OLIVEIRA, D. D. **Interações Mutualísticas Entre Formigas e Plantas**, EntomoBrasilis 2: 32-36. (2009).

DI STRASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar**. Editora UNESP, São Paulo. Primeira edição. (1996).

EDWARDS, P.J; WRATTEN, S.D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. Ed. E.P.U. editora pedagógica universitária Ltda. São Paulo, 1981 2ª edição. (1980).

FURLAN, A., UDULUTSCH, R. G., DIAS, P. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Nyctaginacea**. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 26: 51-59. (2008).

HENDRIK, P.; JONG, R. **A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity**. New Phytologist. 143, 163-176. (1999)

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. Quarta edição. Editora Savier. (2005).

MARINHO-FILHO, J., RODRIGUES, F., GUIMARÃES, M. **A fauna de vertebrados da Estação Ecológica de Águas emendadas: história natural e ecologia em um fragmento de cerrado do Brasil Central**. Revista brasileira de Zoologia 22 : 898-907. (2005).

MELONI, F., VARANDA, E.M. **Aspectos químicos e ecológicos de Neea theifera (Oerst) e Guapira graciliflora (Lundell) (Nyctaginaceae) e a comunidade de Arthropoda no Cerrado stricto sensu, gleba Pé-de-Gigante, Parque Estadual Vassununga, SP**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. São Paulo, Brasil. (2008).

MELONI, F., LOPES, N.P.; VARANDA, E.M. **The relationship between leaf nitrogen, nitrogen metabolites and herbivory in two species of Nyctaginaceae from the Brazilian Cerrado**. Environmental and Experimental Botany 75: 268– 276. (2012).

MENEZES, E.L.A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p. atalha

MOTTA, P. E. F.; CURI, N.; FRANZMEIER, D. P. **Relation of Soils and Geomorphic Surfaces in the Brazilian Cerrado**. In: OLIVEIRA, PAULO S.; MARQUIS, ROBERT J. The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna. New York City: editor Columbia University. (2002).

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A. **Vegetation Physiognomies and Woody Flora of the Cerrado Biome**. In: OLIVEIRA, P. S.; Marquis, R. J. The

Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna. New York City: editor Columbia University. (2002).

PAIS, M.P. **Valor nutritivo e investimento em defesas em folhas de *Didymopanax vinosum* E. March. E sua relação com a herbívora em três fisionomias de cerrado.** Dissertação de mestrado em entomologia. Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. São Paulo, Brasil. (1998).

PAIS, M.P.; VARANDA E. M. **Variation in plants defense of *Diymopanax vinosum* (Cham. & schldl.) seem. (Apiaceae) across a vegetation gradient in a Brazilian cerrado.** Acta Botanica Brasilica 17: 393-403. (2003).

RAVEN, P.H., EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal.** Editora W.H. Freeman and company, Nova York. Sexta edição. (1999).

SEVERI, J. A. **Uso Sustentavel da Biodiversidade brasileira prospecção químico-farmacologica de plantas superiores: *Guapira noxia* (Nyctaginaceae).** Dissertação em ciências farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. (2007).

STRONG, D.R.; LAWTON, J.H.; SIR RICHARD SOUTHWOOD. **Insects on plants community patterns and mechanisms.** Blackwell Scientific Publications. Cambridge, Massachusetts. (1984).

SILVA, D.M.; BATALHA, M.A. **Defense syndromes against herbivory in a cerrado plant community.** Plant Ecology 212:181–193. (2011).

SINIMBU, G., COLEY, P.D.; LEMES, M.R. **Do the antiherbivore traits os expanding leaves in the neo tropical tree inga paraensis (fabacea) vary eith light avaliability?.** Oecologia 170:669-676. (2012).

SCHOONHOVEN, L.M., JERMY, T.; VAN LOON, J.J.A. **Insect-Plant Biology form physiology to evolution.** Ed. CHAPMAN & HALL 1a edição. (1998).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre, ed. Artmed 3a edição. (2004)

VARANDA, E.M., COSTA, A.A.; BAROSELA, J.R. **Leaf development in *Xylopia aromática* (Lam) Mart. (Annonacea): implications of palatability to *Stenoma scitiorella* Walker 1864 (Lepidoptera: Elasmobranchidae).** Brazilian. Journal of Biology, 831-836. (2008).