

Avaliação do potencial inseticida de extratos das folhas de *Bauhinia rufa* (Fabaceae) contra *Atta Sexdens rubropilosa*

Danielly F. dos Santos^{1*}(IC), Renato G. Santos¹(PG), Danielly de S. e Silva¹(IC), Weber M. da Silva Júnior¹(PG), Odair Correa Bueno²(PQ), Antônio C. S. Menezes¹(PQ).
***danielly_fmo@hotmail.com**

¹Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás (CTE-UEG). Br 153, Nº 3105 Fazenda Barreiro do Meio, caixa postal 459, CEP: 75.132-903, Anápolis-GO.

²Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Rio Claro, Departamento de Biologia. Av. 24-A, Nº 1515, Bela Vista, caixa postal 199, CEP: 13.506-900, Rio Claro-SP.

Resumo: Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Bauhinia*, destaca-se a espécie *Bauhinia rufa* (Fabaceae) cuja atividade inseticida já foi testada frente à alguns organismos, tais como larvas de *Culex quinquefasciatus* (espécie de mosquito), *Rhopalosiphum maidis* (espécie de pulgão) e *Tetranychus Urticae Koch* (espécie de ácaro). Assim sendo, objetivou-se com este trabalho avaliar a toxicidade “*in vitro*” de extratos da planta do cerrado *Bauhinia rufa* para operárias de *Atta sexdens rubropilosa*. No teste de toxicidade foi utilizado o método de incorporação dos extratos em dieta artificial, denominado “*dry mix*”, onde essas dietas preparadas foram oferecidas a cinquenta operárias médias durante 25 dias para cada tratamento. Como dieta, foram utilizados os extratos metanólico, diclorometânico, hexânico e acetato-etílico das folhas de *B. rufa*, todos na concentração de 0,2, 1 e 2 mg/mL. Ao término dos ensaios observou-se que apenas um dos extratos testados apresentou potencial inseticida significativo, entretanto, em apenas uma das concentrações testadas.

Palavras-chave: *Bauhinia rufa*, *Atta sexdens rubropilosa*, Fabaceae.

Introdução

Desde os tempos primórdios os produtos naturais são utilizados pela humanidade, na busca de tentativas de cura e alívio de doenças utilizavam-se folhas e ervas por ingestão, sendo estas umas das primeiras formas de se utilizá-los (VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

No Brasil, a pesquisa em produtos naturais é uma das áreas mais tradicionais da Química, principalmente por ser um país rico em peculiaridades e pluralidades climáticas e geográficas, o que faz com que tenha uma das maiores diversidades, como por exemplo, a maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, fatores

que juntos acarretam em uma enorme quantidade de insetos e, sobretudo, de plantas (PINTO et al., 2002; JÚNIOR, 2003).

Dentre as espécies de plantas estudadas, destacam-se as espécies do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Fabaceae, as quais apresentam várias atividades biológicas descritas na literatura, conforme exposto nos trabalhos de Silva e Cechinel Filho (2002), Nogueira e Sabino (2012), e Martínez et al. (2011).

A espécie *Bauhinia rufa*, gênero *Bauhinia*, popularmente conhecida como “Pata de vaca”, tem sido destacada por estudos realizados de avaliação citotóxica (SANTOS, 2014; CARDOSO, 2014), e principalmente inseticidas, tais como: contra *Rhopalosiphum maidis* (BICHUETTE et al., 1998), larvas de *Culex quinquefasciatus* (RIBEIRO NETO et al., 2013), e *Tetranychus Urticae Koch* (SILVA e CAMARA, 2014).

Deste modo, tendo em vista os vários ensaios inseticidas descritos para a espécie *Bauhinia rufa*, objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o potencial tóxico dos extratos metanólico, diclorometânico, hexânico e acetato-etílico das folhas desta espécie por meio de bioensaios por ingestão, para operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

Material e Métodos

1. Coleta e identificação do material botânico

As folhas da planta *Bauhinia rufa* (Fabaceae) foram coletadas na cidade de Leopoldo de Bulhões, no dia 11 de março de 2016. Foram coletados 1,23 Kg de folhas, sendo a referida espécie identificada pela Prof^a. Dr^a. Mirley Luciene dos Santos. A exsicata do material vegetal foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Goiás “HUEG” sob o número de tombo 11.061.

2. Obtenção dos extratos

O material vegetal coletado foi secado em estufa (MA035 – Marconi) com circulação de ar a 45°C durante 48 horas, pulverizado em moinho Willey (tipo cróton MA-580) e acondicionado em dois erlenmeyers de 2 litros cada. Para que se iniciasse o processo de obtenção do extrato bruto, o material pulverizado foi primeiramente submetido a um processo de maceração a frio com hexano.

Os produtos provenientes das extrações foram então recolhidos e o solvente orgânico evaporado em rotoevaporador (TECNAL-120), em temperaturas abaixo de 40°C, obtendo-se, assim, o extrato hexânico.

Após a obtenção do extrato hexânico, o material vegetal sofreu novas extrações com diclorometano, acetato de etila e metanol, aplicando-se os mesmos procedimentos descritos.

3. Testes “*in vitro*” de toxicidade de extratos de *Bauhinia rufa* em operárias de *Atta sexdens rubropilosa*

3.1. Coleta e manutenção das formigas utilizadas nos bioensaios

As operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, com massa corpórea variando de 15 a 25 mg, foram coletadas de formigueiros mantidos em laboratório no Centro de Estudos de Insetos Sociais - UNESP - *Campus* Rio Claro. Para a manutenção desses formigueiros diariamente foram oferecidos folhas de *Eucalyptus* sp. e flocos de aveia e, ocasionalmente, outras plantas palatáveis às saúvas como *Hibiscus* sp., *Ligustrum* sp. ou folhas e pétalas de roseiras.

Para a manutenção das formigas isoladas do formigueiro, conseqüentemente na ausência do fungo simbiote e de folhas considerados seus alimentos, foi utilizada uma dieta artificial sólida, preparada com 1,25g de glicose, 0,25g de peptona bacteriológica, 0,025g de extrato de levedura e 0,25g de ágar bacteriológico, dissolvidos em 25 mL de água destilada. Após a mistura das substâncias, a dieta foi levada ao forno de microondas para melhor solubilização dos ingredientes e, posteriormente autoclavada a 120°C e 1atm por 15 minutos. Em seguida foi vertida ainda quente em placas de Petri de 10 cm de diâmetro, previamente esterilizadas em estufa a 180° C e, após o resfriamento e a solidificação, foi embrulhada em filme de PVC e mantida em geladeira, sendo utilizada nos dias subsequentes, durante o período do experimento (BUENO et al., 1997).

3.2. Bioensaios para determinação da toxicidade

Em todos os bioensaios as formigas foram retiradas dos formigueiros e distribuídas em lotes de 50 operárias para cada concentração testada, divididas em

grupos de 10 formigas e mantidas em 5 placas de Petri de 10 cm de diâmetro forradas com papel filtro. Essas placas foram colocadas em estufa para BOD com temperatura de 24°C + 1°C e umidade relativa acima de 70%. Os bioensaios foram examinados diariamente, para a retirada e anotação do número de formigas mortas, durante um período de 25 dias.

A dieta para manutenção das formigas (controle) ou dieta acrescida dos ingredientes ativos (tratamentos) foi colocada em papel alumínio na quantidade aproximada de 0.4 a 0.5 g/placa. A cada 24 horas a dieta foi renovada e sempre que necessário, os papéis filtro (que geralmente são cortados pelas formigas) foram trocados, a fim de se evitar o desenvolvimento de fungos contaminantes bem como manter o ambiente limpo para as formigas.

Foi estipulado um período máximo de 25 dias para a realização dos experimentos de toxicidade, levando-se em conta o período normal de sobrevivência das formigas mantidas com dieta artificial (BUENO et al., 1997).

3.3. Incorporação em dieta artificial

Os extratos *Bauhinia rufa* foram incorporados na dieta utilizando o método “dry-mix”, que consiste em acrescentar o princípio ativo à glicose e aos demais ingredientes secos da dieta e, posteriormente, à água destilada. Neste caso, não é utilizado solvente. O extrato de *Bauhinia rufa* foi incorporado na dieta por diluição e depois foi autoclavado com todo o material. Cada extrato utilizado foi testado nas concentrações de 0.2, 1 e 2 mg/mL.

3.4. Análise dos dados de toxicidade

A análise gráfica foi realizada através das determinações das porcentagens acumuladas de formigas vivas por dia para cada tratamento. Posteriormente, o tempo de sobrevivência mediana foi determinado e as curvas de sobrevivência foram comparadas por meio do teste não paramétrico “log rank”, com nível de significância de 5% (ELANDT-JOHNSON & JOHNSON et al., 1980), utilizando-se o software *Graph-Pad*, aplicativo *Prisma 3.0*.

Em seguida, procedeu-se a comparação das curvas de sobrevivência de formigas submetidas aos tratamentos com extratos *Bauhinia rufa* e a curva do controle dieta pura.

Resultados e Discussão

1. Obtenção dos extratos

A obtenção dos extratos hexânico (BHFH), diclorometânico (BHFD), acetato-etílico (BHFA) e metanólico (BHFM) partiu de uma massa inicial de 1,23 Kg de material fresco, que ao término da secagem e pulverização resultou em 0,96 Kg de material vegetal. Este, por sua vez, ao ser submetido à extração com os solventes mencionados perfez uma massa final de 21,38 g de extrato hexânico, 8,9 g de extrato diclorometânico, 15,03 g de extrato acetato-etílico e 99,05 g de extrato metanólico.

2. Toxicidade para operárias de *Atta sexdens rubropilosa*

Os resultados obtidos para cada bioensaio estão apresentados através das análises gráficas das curvas de sobrevivência (**Gráficos 1, 2, 3 e 4**) e da **Tabela 1** que resume as porcentagens acumuladas de mortalidade diária, o tempo de sobrevivência mediana (Md) e a interpretação do teste “log rank”, conforme exposto abaixo.

Gráfico 1. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato de *Bauhinia rufa* – folha metanol (BHFM) nas concentrações de 0,2 mg/mL, 1mg/mL e 2 mg/mL.

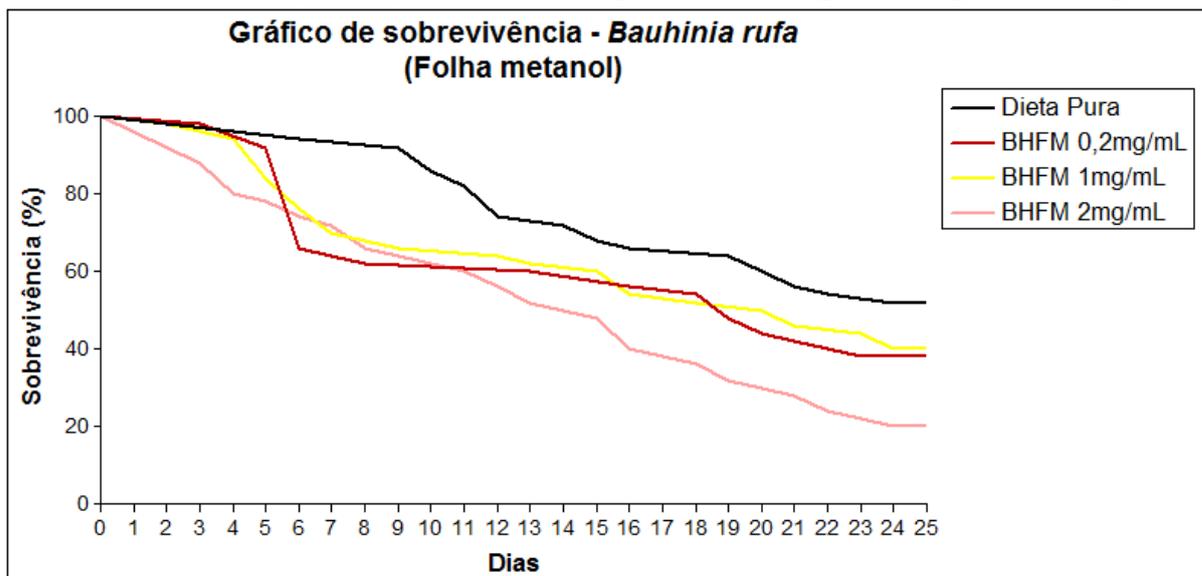


Gráfico 2. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato de *Bauhinia rufa* – folha diclorometano (BHFD) nas concentrações de 0,2 mg/mL, 1mg/mL e 2 mg/mL.

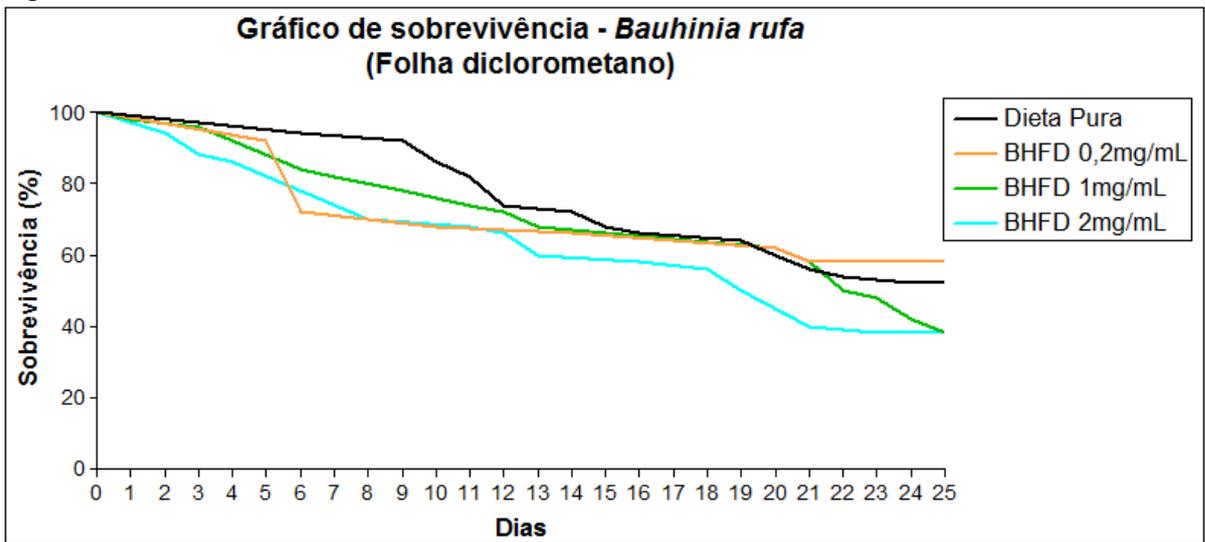


Gráfico 3. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato de *Bauhinia rufa* – folha hexano (BHFH) nas concentrações de 0,2 mg/mL, 1mg/mL e 2 mg/mL.

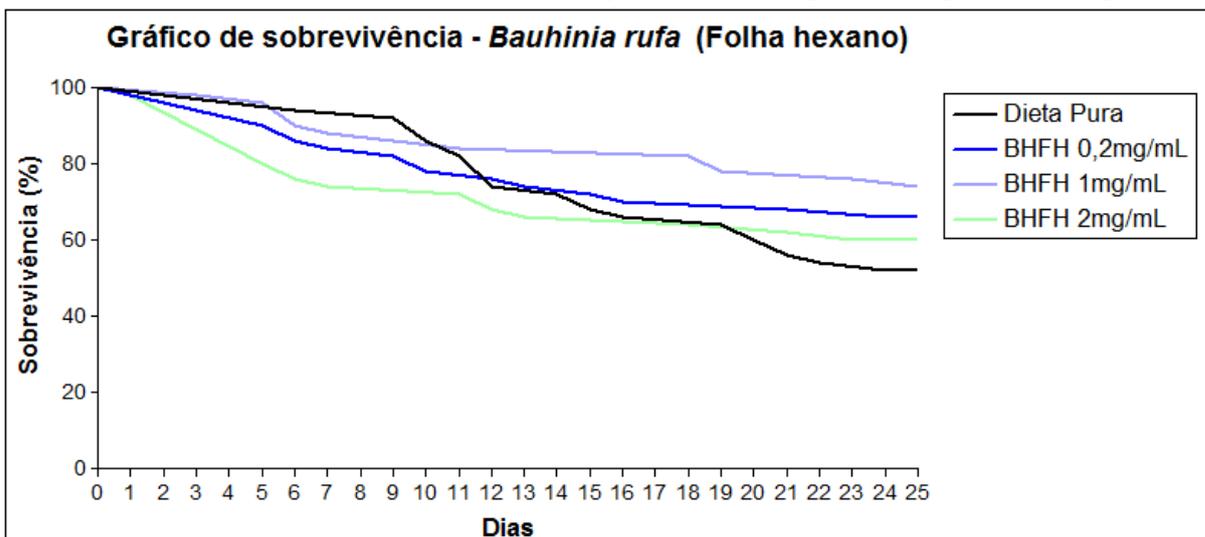


Gráfico 4. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato de *Bauhinia rufa* – folha acetato (BHFA) nas concentrações de 0,2 mg/mL, 1mg/mL e 2 mg/mL.

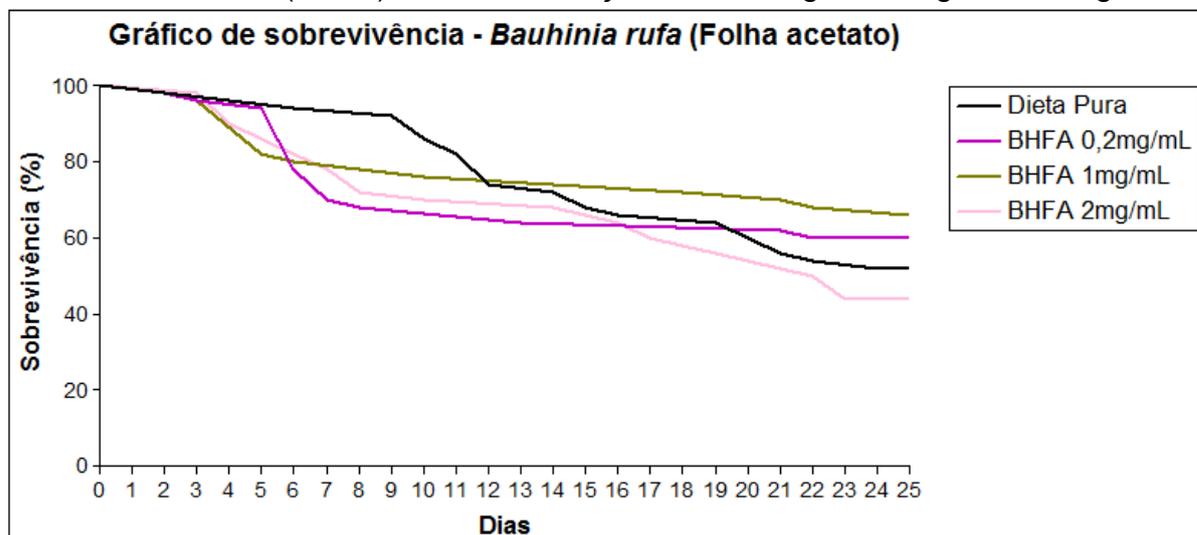


Tabela 01. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extratos de *Bauhinia rufa* folha metanol (BHFM), folha diclorometano (BHFD), folha hexano (BHFH) e folha acetato (BHFA) nas concentrações de 0,2 mg/mL, 1mg/mL e 2 mg/mL.

Tratamento	% acumulada de mortalidade por dia										Md *
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Dieta Pura	0	0	0	6	6	14	28	34	44	48	>25a
BHFM 0,2mg/mL	0	0	2	34	38	38	40	46	58	62	19a
BHFM 1mg/mL	0	2	4	24	32	34	38	46	54	60	20a
BHFM 2mg/mL	0	0	12	26	34	36	48	62	72	80	15b
BHFD 0,2mg/mL	0	0	0	28	30	32	34	34	42	42	>25a
BHFD 1mg/mL	2	2	4	16	18	22	32	34	42	62	22a
BHFD 2mg/mL	0	6	12	14	30	30	40	42	60	62	19a
BHFH 0,2mg/mL	0	0	0	14	16	22	26	30	32	34	>25a
BHFH 1mg/mL	0	0	2	10	12	12	16	16	22	26	>25a
BHFH 2mg/mL	2	2	2	24	26	26	34	34	38	40	>25a
BHFA 0,2mg/mL	0	2	4	22	32	32	36	36	38	40	>25a
BHFA 1mg/mL	0	2	4	20	22	24	24	24	30	34	>25a
BHFA 2mg/mL	0	0	2	18	28	30	32	40	48	56	22a

Legenda: * Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "log rank" ($p < 0,05$).

Considerações Finais

A análise estatística revelou que apenas o extrato BHF_M (folha metanol) na concentração de 2 mg/mL apresentou valores significativos quando comparados com o controle dieta pura, tendo uma mortalidade de 80% e a mediana no 15^o dia. O controle dieta pura apresentou mediana superior a 25 dias. Os demais extratos de *Bauhinia rufa* não apresentaram mortalidade significativa até o término do experimento, considerando que não houve diferenças significativas entre o controle e os tratamentos.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Estadual de Goiás pelo apoio financeiro, e ao Programa de Bolsa e Incentivo à Pesquisa e Produção Científica (PROBIP-UEG).

Referências

BICHUETTE, M. E.; VARANDA, E. M.; BAROSELA, J. R. Effects of ester fractions from leaf epicuticular waxes of *Bauhinia rufa* (Steud.) Bong. and *Stryphnodendron adstringens*(Mart.) Coville from cerrado on the aphid *Rhopalosiphum maidis* (Fitch.). **Revista Brasileira de Botânica**, v.21, n.1, p.101-104, 1998.

BUENO, O.C.; MORINI, M. S. C.; PAGNOCCA, F.C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A. Sobrevivência de Operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) Isoladas do Formigueiro e Alimentadas com Dietas Artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.26, p.107-113, 1997.

CARDOSO, S. D. **Estudo da atividade antitumoral de extratos de plantas e de fluidos de cultivo de fungos em linhagens de células de adenocarcinoma de próstata humano**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da saúde - Universidade de Brasília.

ELANDT-JOHNSON, R.C.; JOHNSON, N.L. **Survival Models and Data Analysis**. New York: Wiley, Chapter 10, 1980.

JÚNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26, n.3, p.390-400, 2003.

MARTÍNEZ, M. M.; OCAMPO, D. M.; GALVIS, J. H.; VALENCIA, A. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v.16, n.4, p.313-323, 2011.

NOGUEIRA, A. C. O.; SABINO, C. V. S. Revisão do gênero *Bauhinia* abordando aspectos científicos das espécies *Bauhinia forficata* Link e *Bauhinia variegata* L. de interesse para a indústria farmacêutica. **Revista fitos**, v.7, n.2, p.77-2012.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFÂNIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, v.25, supl.1, p. 45-61, 2002.

RIBEIRO NETO, J. A.; TEIXEIRA, J. L.; ALVES, S. N.; JUNIOR, P. J. G. Avaliação dos efeitos da cafeína anidra e de diferentes extratos de “Pata de vaca” (*Bauhinia rufa*) e café arábica (*coffea arabica*) em larvas de *culex quinquefasciatus*. **Revista eletrônica de Biologia**, v.6, n.2, p.175-183, 2013.

SANTOS, B. T. A. **Estudo da atividade dos extratos de plantas e fungos endofíticos isolados do cerrado brasileiro em linhagem celular de feocromocitoma**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Farmácia - Universidade de Brasília

SILVA, K. L. C.; CAMARA, C. A. G. Composição Química e avaliação do potencial acaricida do óleo essencial das folhas da espécie *Bauhinia rufa* Steud frente ao ácaro rajado. In: 54º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Natal, 2014. **Anais 54º Congresso Brasileiro de Química**, Natal, 2014. Disponível em:

<<http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/7/5884-19025.html>>. Acesso em: agosto de 2016.

SILVA, K. L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero Bauhinia: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25, n.3, p.449-454, 2002.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v.29, n.2, p.326-337, 2006.