

**TOXICIDADE DE *Annona muricata* PARA *Atta sexdens rubropilosa* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE).** Tais Garcia Freitas, Odair Correa Bueno, Fabiana Correa Bueno. – Zoologia – Ciências Biológicas – Centro de Estudos de Insetos Sociais – Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro.

As formigas cortadeiras, conhecidas popularmente como saúvas e quenquês, são consideradas causadoras de grandes danos econômicos devido, principalmente, ao desfolhamento que causam nas plantas. Estas formigas atacam geralmente monoculturas, onde cortam e transportam fragmentos vegetais para seus ninhos, cultivando o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Möller) do qual se alimentam (BUENO, 2005).

Apesar dos prejuízos ocasionados pelas saúvas terem sido mencionados desde o século XVI, as medidas de controle dessas pragas são ainda insuficientes (MARICONI, 1970). Todas as formas de controle, apesar do custo elevado, têm mostrado apenas efeitos temporários e algumas vezes, danos indevidos para o ambiente (WILLIAMS, 1990).

O controle químico de pragas de plantas cultivadas, dentro das quais estão as saúvas, constitui-se numa das principais preocupações ecológicas devido aos efeitos maléficos causados pelos agrotóxicos sobre o ambiente, o homem e outros animais. Em consequência disso, nos últimos anos, tem aumentado a pesquisa na busca de alternativas para o controle destes insetos. Uma delas é utilizar produtos que possam substituir os agrotóxicos tradicionais por outros de degradação rápida, de maior especificidade e menos danosos ao ambiente (MORINI et al., 2005).

Os produtos naturais presentes nos vegetais superiores, fundamentalmente aqueles que fazem parte do metabolismo secundário, podem constituir novas fontes de material na procura de substâncias de origem vegetal, principalmente nas espécies ainda não estudadas, que apresentem atividade biológica contra os insetos praga (BALANDRIN et al., 1985). E, sem dúvida alguma, as plantas tropicais têm mostrado ser uma fonte rica de substâncias biologicamente ativas (ISMAN, 1989).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de extratos brutos da semente de graviola, *Annona muricata*, para operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

Para a realização dos bioensaios, operárias médias de *Atta sexdens rubropilosa*, com massa corpórea variando de 15mg a 20mg, foram retiradas de formigueiros mantidos no Centro de Estudos de Insetos Sociais e para a manutenção dessas formigas foi utilizada uma dieta artificial sólida, preparada com 5g de glicose, 1g de peptona bacteriológica, 0,1g de extrato de levedura e 1,5g de ágar bacteriológico, dissolvidos em 100mL de água destilada (BUENO et al., 1997). Além disso, os extratos brutos hexano e diclorometano da semente da graviola, obtidos pela extração química com os solventes orgânicos hexano e diclorometano, foram incorporados a essa dieta nas concentrações de 0,2mg/mL, 1mg/mL e 2mg/mL.

Posteriormente, essa dieta foi aquecida em forno de microondas, para melhor solubilização dos ingredientes e autoclavada a 120°C e 1 atm por 15 minutos. Em seguida, foi vertida ainda quente em placas de Petri de 10cm de diâmetro, previamente esterilizadas em estufa a 180°C por duas horas. Após o resfriamento e solidificação das dietas as placas foram embrulhadas com filme de PVC e mantidas em geladeira, para melhor conservação e para evitar a contaminação por microrganismos, sendo utilizadas nos dias subseqüentes, durante o período do experimento.

As formigas foram distribuídas em lotes de 50 operárias para cada concentração testada (tratamento), divididas em grupos de dez formigas e mantidas em 5 placas de Petri de 10cm de diâmetro forradas com papel filtro. As placas foram colocadas em estufa para B.O.D com temperatura de 24°C  $\pm$  1°C e umidade relativa acima de 70% e examinadas diariamente, para a retirada e anotação do número de formigas mortas.

A dieta para manutenção das formigas (controle) ou as dietas acrescidas dos extratos (tratamento) foram colocadas em papel alumínio na quantidade aproximada de 0,4g a 0,5g / placa. A cada 24 horas as dietas foram renovadas e sempre que necessário, os papéis de filtro foram trocados, a fim de se evitar o desenvolvimento de microrganismos 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).

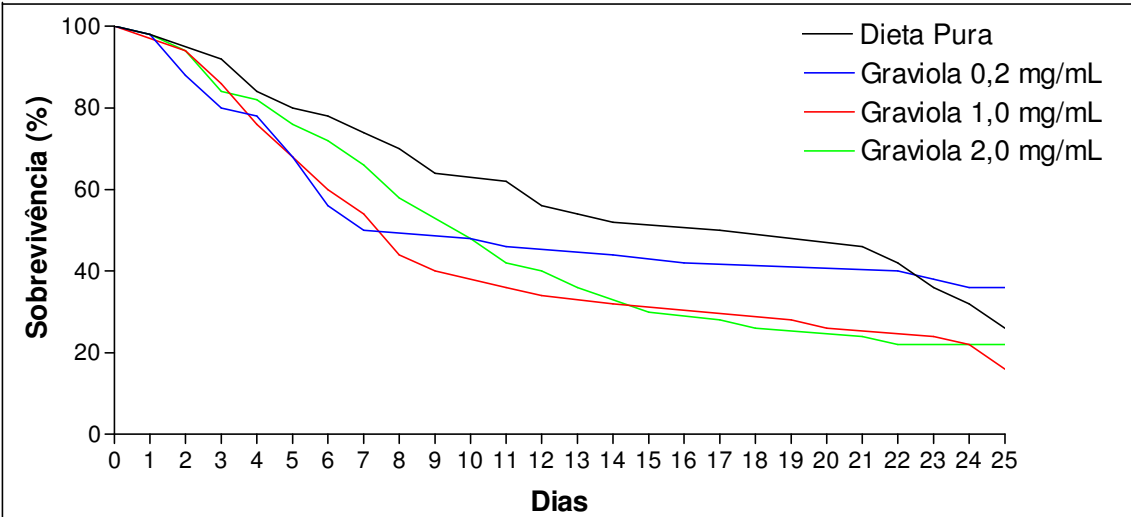
A análise gráfica foi realizada através das determinações das porcentagens acumuladas de formigas vivas por dia para cada tratamento. Posteriormente, determinou-se o tempo de sobrevivência mediana e as curvas de sobrevivência foram comparadas através do teste não paramétrico “log-rank”, com nível de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

Os resultados obtidos estão apresentados através da análise gráfica das curvas de sobrevivência e da tabela que resume as porcentagens acumuladas de mortalidade diária, o tempo de sobrevivência mediana (Md) e interpretação do teste “log rank” (Prisma 3.0).

O extrato hexano da semente de graviola não provocou diminuição na sobrevivência das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Figura 1). A análise estatística revelou que nenhuma das concentrações testadas apresentou valores significativos (Tabela 1).

O extrato diclorometano da semente de graviola provocou diminuição na sobrevivência das operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, com redução mais acentuada para a concentração 2mg/mL (Figura 2). A análise estatística revelou que todas as concentrações testadas apresentaram valores significativos, no entanto, para as concentrações 0,2mg/mL e 1mg/mL não houve mortalidade total das formigas até o término do experimento (25° dia). O tempo de sobrevivência mediano das formigas tratadas foi reduzido de 24 dias (controle dieta pura) para 19 (0,2mg/mL), 14 (1mg/mL) e 9 dias (2mg/mL) (Tabela 2).

Diante dos resultados satisfatórios obtidos para o extrato diclorometano da semente de graviola, admite-se a necessidade de seu fracionamento para o isolamento e identificação da (s) substância (s) responsável (eis) pela toxicidade apresentada às operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

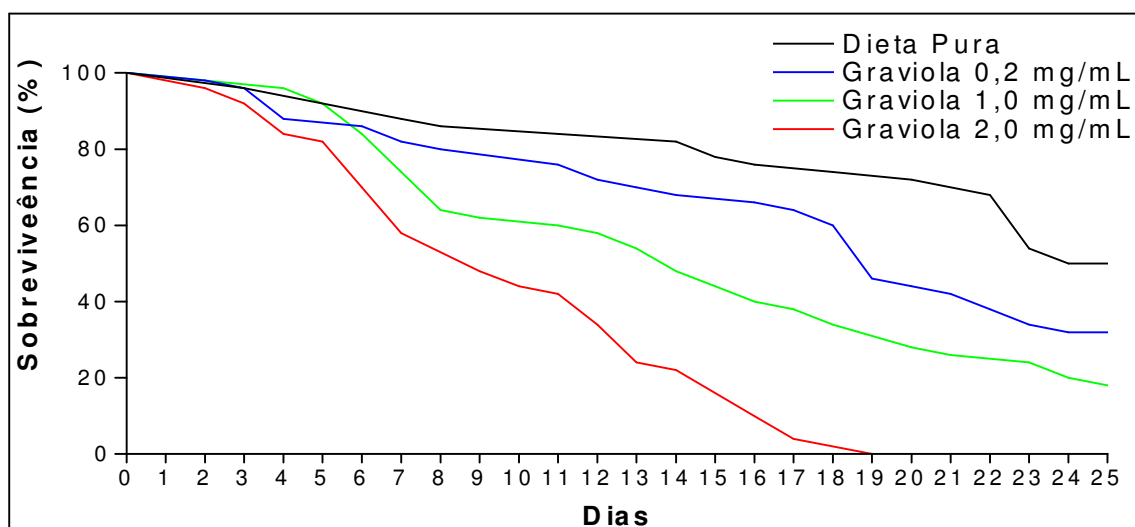


**Figura 1:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato hexano da semente de graviola (*Annona muricata*) em diferentes concentrações.

**Tabela 1.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato hexano da semente de graviola (*Annona muricata*) em diferentes concentrações

Composto	% acumulada de mortalidade por dia										Md*
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
<b>Controle Dieta Pura</b>	2	2	8	22	30	36	48	50	54	74	17 a
<b>Graviola 0,2mg/mL</b>	2	12	20	44	50	52	56	58	58	64	8,5 a
<b>Graviola 1mg/mL</b>	0	6	14	40	56	60	68	68	74	84	8,0 a
<b>Graviola 2mg/mL</b>	2	6	16	28	42	52	64	72	76	78	10 a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste “log-rank” (p<0,05).



**Figura 2:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato diclorometano da semente de graviola (*Annona muricata*) em diferentes concentrações.

**Tabela 2.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com extrato diclorometano da semente de graviola (*Annona muricata*) em diferentes concentrações

Composto	% acumulada de mortalidade por dia										Md*
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
<b>Controle Dieta Pura</b>	0	0	4	4	14	14	18	24	28	50	24 a
<b>Graviola 0,2mg/mL</b>	0	2	4	14	20	20	32	36	58	64	19 b
<b>Graviola 1mg/mL</b>	0	0	0	12	32	34	48	58	70	78	14 b
<b>Graviola 2mg/mL</b>	0	4	8	30	42	56	78	96	100	----	9 b

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste “log-rank” (p<0,05).

## Referências Bibliográficas

BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal material. **Science**, v.2228, n.4704, 1985.

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, n.1, p.107-113, 1997.

BUENO, F.C. **Seleção de Ingredientes ativos para uso em iscas no controle de formigas coradeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2005. 98 folhas. Tese (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

ELANDT-JOHNSON, R.; JOHNSON, N.L. **Survival models and data analysis**. New York: John Wiley and Sons, 1980.

ISMAN, M.B. Toxicity and fate of acetylchromenes in pest insects. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, J. R.; MORAND, P. (Ed.). **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. p.44-58.

MARICONI, F.A.M. **As saúvas**. São Paulo: Ceres, 1970. 167p.

MORINI, M.S.C.; BUENO, O.C.; BUENO, F.C.; LEITE, A.C.; HEBLING, M.J.A.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v.45, n.1, p.195-204, 2005.

WILLIAMS, D.F. Applied Ecology: Overview. In: VANDER MEER, R.K.; JAFFÉ, K.; CEDAÑO, A. (Eds.) **Applied myrmecology**: a world perspective. Boulder, San Francisco & Oxford: Westview Press, 1990. p.493-495.

**Bolsa:** CNPq