



Recebido: 03/09/2023 | Revisado: 22/11/2023 | Aceito: 12/12/2023 | Publicado: 01/03/2024



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 Unported License.

DOI: 10.31416/rsdv.v12i1.661

## BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FEIJÃO-BRAVO (*Cynophalla hastata*) FRENTE À MOSCA-DA-FRUTA (*Ceratitis capitata*) E SUA TOXICIDADE EM *Artemia salina*

BIOACTIVITY OF WILD-BEAN ESSENTIAL OIL (*Cynophalla hastata*) AGAINST FRUIT-FLY (*Ceratitis capitata*) AND ITS TOXICITY IN *Artemia salina*

### PEREIRA, Emanuela Beatriz Souza Silva. Agrônoma

IFSertãoPE-Campus Petrolina Zona Rural. Rodovia BR 325, Km 22, Projeto Senador Nilo Coelho -N4- Petrolina-PE-Brasil- CEP: 56300-00/ Telefone (87) 2101-8050/Email: emanuelabeatriz.agro@gmail.com

### TAVARES, Yuri Kelven Camacho. Mestrando em Biociências

Univasf - Campus Petrolina/ NEPLAME. Av. José de Sá Maniçoba, S/N, Centro, Petrolina-PE, Brasil -CEP: 56304-917/ Telefone (87) 2101-6825. Email: yuri.ksct@gmail.com

### ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva. Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

Univasf - Campus Petrolina/ NEPLAME. Av. José de Sá Maniçoba, S/N, Centro, Petrolina-PE, Brasil -CEP: 56304-917/ Telefone (87) 2101-6825. Email: jackson.guedes@univasf.edu.br

### COSTA, Eliatânia Clementino. Doutora em Biotecnologia

IFSertãoPE-Campus Petrolina Zona Rural. Rodovia BR 325, Km 22, Projeto Senador Nilo Coelho -N4- Petrolina-PE-Brasil- CEP: 56300-00/ Telefone (87) 2101-8050/ E-mail: eliatania.costa@ifsertao-pe.edu.br

### SOUZA, Elizângela Maria de. Doutora em Zootecnia

IFSertãoPE-Campus Petrolina Zona Rural. Rodovia BR 325, Km 22, Projeto Senador Nilo Coelho -N4- Petrolina-PE-Brasil- CEP: 56300-00/ Telefone (87) 2101-8050/ E-mail: elizangela.maria@ifsertao-pe.edu.br

## RESUMO

Na busca da valorização e conhecimento da flora da Caatinga, o objetivo foi avaliar a bioatividade do óleo essencial da casca *Cynophalla hastata* em *Ceratitis capitata* e realizar o teste de toxicidade em *Artemia salina*, seguido da prospecção fitoquímica quantitativa. O material vegetal foi coletado para a extração do óleo essencial por hidrodestilação. A análise do óleo foi em Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas, na Universidade de São Paulo. Os bioensaios do óleo frente às pupas da *C. capitata* foram em delineamento inteiramente casualizado nas concentrações de 2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L<sup>-1</sup> e controle (Tween 80 a 2%). As pupas foram acondicionadas por sete dias em BOD e as avaliações feitas a cada 24 horas por oito dias. Além disso, foi realizado o teste de toxicidade em *Artemia salina*. O óleo essencial apresentou rendimento de 0,035%. A cromatografia revelou compostos raros em óleos, como marjoritários: isopropil isotiocianato (25,88 %), hexanonitrilo (30,38 %) e 4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo (11,30 %). As concentrações de 40,0 e 80,0 mg L<sup>-1</sup> provocou a mortalidade de 76,67% e 80%, respectivamente, consideradas as melhores. O óleo foi considerado fortemente tóxico com CL<sub>50</sub> 4,45 µg mL<sup>-1</sup>, indicando possível potencial para a indústria farmacêutica.

**Palavras-chave:** bioextrato; diptera; efeito tóxico; potencial inseticida; pupa.

## ABSTRACT

In the search for valorization and knowledge of the flora of the Caatinga biome, the objective was to evaluate the bioactivity of the essential oil from *Cynophalla hastata* bark on *Ceratitis capitata* and perform the toxicity test on *Artemia salina*, followed by quantitative phytochemical prospection. The plant material was collected for essential oil extraction by hydro-distillation. The oil analysis was performed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry, at the University of São Paulo. The bioassays of the oil against *C. capitata* pupae were entirely randomized in 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 mg l<sup>-1</sup> and control (2% Tween 80). The pupae were conditioned for seven days in BOD and the



evaluations were done every 24 hours for eight days. In addition, the toxicity test was performed in *Artemia salina*. The essential oil yield was 0.035%. Chromatography revealed compounds rare in oils, as majorities: isopropyl isothiocyanate (25.88 %), hexanonitrile (30.38 %) and 4.4-dimethyl-3-oxopentanitrile (11.30 %). Concentrations of 40.0 and 80.0 mg l<sup>-1</sup> caused 76.67% and 80% mortality, respectively, which were considered the best. The oil was considered strongly toxic with LC50 4.45 µg mL<sup>-1</sup>, indicating potential for the pharmaceutical industry.

**Keywords:** bio extract; diptera; toxic effect; insecticidal potential; pupa.

## INTRODUÇÃO

Dentre os insetos-praga mais danosos economicamente ao seguimento produtivo da fruticultura mundial, às moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) estão entre as principais espécies com importância quarentenária, mais especificamente a espécie *Ceratitis capitata* (GONZAGA, 2019). Elas reduzem a produtividade e qualidade dos frutos através da oviposição pela fêmea e desenvolvimento larval no interior dos frutos.

O controle das moscas-das-frutas, na propriedade, é baseado principalmente na utilização de inseticidas na parte aérea da planta, nas formas de cobertura total e/ou de iscas tóxicas (SILVA; SATO; RAGA, 2019). Entretanto, as atuais formas de controle desencadeiam a resistência, originada por organismos capazes de suportar doses toxicológicas letais para a maioria da população normal (suscetível) da mesma espécie, evoluindo em resposta à seleção natural; limita a eficiência e viabilidade desses produtos em longo prazo, devido à pressão contínua de seleção, imposta pelo uso abusivo de inseticidas (FAZOLIN et al., 2017); colaboram intensamente para o desequilíbrio do agroecossistema, atingindo os inimigos naturais e outros organismos não alvos, além de permitir resíduos tóxicos nos frutos, prejudicando o comércio e o consumo do fruto *in natura* (SANTOS, 2019). Assim, diversos estudos têm buscado descobrir as espécies de vegetais e as partes do vegetal com maiores propriedades inseticidas, caracterizando o perfil fitoquímico, identificando e isolando os compostos ativos que melhor desempenham papel de inseticidas naturais (SILVA et al., 2017).

O uso de óleos essenciais no controle de *C. capitata* vem se mostrando como uma técnica eficiente e promissora (GONZAGA, 2019; CARTAXO, 2020), todavia ainda pouco se sabe sobre o efeito de bioextratos e óleo essencial de plantas nativas sobre fases imaturas de *C. capitata*, uma vez que as estratégias de controle em uma área infestada de mosca-das-frutas têm sido direcionadas a fase adulta do inseto, podendo ser mais uma opção economicamente viável para o controle dessa praga,



visando proteger o meio ambiente, diminuir a resistência e aumentar a produtividade das culturas (LEANDRO, 2019). Há uma necessidade de que novos estudos sejam desenvolvidos buscando analisar a eficiência do óleo essencial de outras espécies vegetais, incluindo as plantas nativas da Caatinga no controle dessa praga.

Sabe-se que a Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro. Entretanto, a sua riqueza em biodiversidade vegetal e seus benefícios é pouco citada e discutida na literatura. Nesse cenário, a *C. hastata* (Jacq.) J. Presl. (Capparaceae), conhecida popularmente por feijão-bravo ou feijão-de-boi, é nativa do Brasil e encontrada nas áreas de Caatinga, tendo suas informações escassas na literatura. De acordo com Souza et al. (2021), a espécie apresenta uso forrageiro; uso na medicina popular, onde as folhas, casca e entrecasca são utilizadas como analgésico, vermífugo, problemas de pele e infecções sexualmente transmissíveis, além da casca, usada em caso de picada de cobra. Salienta-se que, além desta espécie, muitas outras desse bioma são utilizadas na medicina popular por uma parcela significativa da população, embora seus perfis toxicológicos não sejam bem conhecidos. Por isso, é preciso que haja muito cuidado na utilização, pois, os mesmos podem apresentar substâncias que venham a apresentar efeitos colaterais adversos, devido à liberação de determinados componentes presentes no vegetal ou a forma de realização de coleta e extração ineficiente de seus constituintes (SÁ et al., 2020).

Para isso é importante ressaltar que o uso de plantas exige a realização de ensaios de toxicidade para verificar a segurança nessa utilização. Nesse propósito, tem sido estimulado o desenvolvimento de ensaios *in vitro* para determinar a possível toxicidade das plantas e uma das técnicas que podem ser adotadas é a utilização do bioensaio com camarão de salmoura (*A. salina* Leach) um crustáceo que vive em lagos de água salgada de todo o mundo, com simplicidade de manuseio e baixo custo (MELO et al., 2021). Esse teste pode indicar possíveis ações biológicas como anticancerígenas, moluscicida, inseticida e antifúngica.

Diante do contexto, na busca por recursos alternativos de controle da mosca-das-frutas e a necessidade de estudo das espécies da nossa flora, bem como a segurança na utilização plantas, este trabalho teve como objetivo avaliar a bioatividade do óleo essencial da casca da *C. hastata* em pupas de *C. capitata*, assim como realizar a análise fitoquímica do óleo essencial e o teste de toxicidade preliminar em *A. salina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

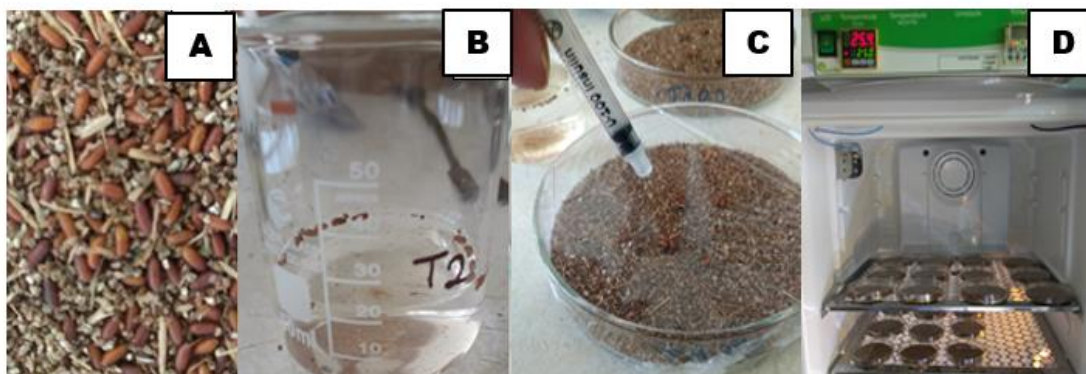
Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural e no Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

### Coleta, extração e rendimento do óleo essencial

A coleta da casca do caule da espécie estudada (*C. hastata*) foi realizada entre maio e junho de 2021, no campo do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural (9° 20' 12,59596" Sul, 40° 41' 45,48919" Oeste), às 08h30. Foi produzida a exsicata, a espécie *C. hastata* foi depositada no Herbário do Vale do São Francisco - HVASF, na cidade de Petrolina/PE identificada com o número de registro/voucher - 24374.

A casca foi raspada e sua massa mensurada para cálculos posteriores de rendimento (Figura 01).

**Figura 01:** Bioensaio da atividade inseticida: a) pupas formadas; b) pupas imersas nas concentrações; c) papel filme perfurado para entrada de O<sub>2</sub>; d) acondicionamento em BOD.



Fonte: arquivo pessoal.

Assim realizou-se o processo de extração do óleo essencial, por meio da técnica conhecida por hidrodestilação, com um extrator de *Clevenger*. Nesse processo, 800 g das raspas da casca foram introduzidas em um balão de fundo redondo (6 L), a fim de realizar a extração dos óleos essenciais por 3h, com temperatura de 100° C. Posteriormente, foi determinada a massa do óleo por meio de balança analítica com precisão de 0,1 g, o qual foi mantido em ampola de vidro âmbar sob refrigeração de 4° C até a realização da análise de identificação dos seus constituintes.



O rendimento foi obtido dividindo-se a massa do óleo essencial obtida pela massa das raspas da casca colocadas para a extração do óleo. O resultado foi expresso em porcentagem (RIBEIRO et al., 2018).

### **Obtenção das larvas**

As larvas da *C. capitata* foram fornecidas pela Biofábrica Moscamed Brasil no 3º instar, alimentadas com dieta artificial composta por bagaço de cana, farinha de soja, levedura de cerveja, açúcar cristal, metilparabeno (Nipagin), benzoato de sódio, ácido cítrico, tetraciclina e água filtrada. Assim, foram acondicionadas em bandejas plásticas contendo vermiculita esterilizada para obtenção das pupas (Figura 01).

### **Ensaio da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da *C. capitata***

Para o ensaio de atividade inseticida, o óleo essencial foi diluído em solução aquosa de Tween 80 a 2% nas concentrações: 2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L<sup>-1</sup>. Como controle utilizou-se a solução aquosa de Tween 80 a 2%. O delineamento foi inteiramente casualizado com sete tratamentos em triplicata.

Cada unidade amostral foi constituída por uma placa de Petri com papel filtro incluindo 10 pupas com idade de dois dias. As pupas foram imersas em béquer contendo 20 mL de cada tratamento e, após 30 segundos de contato, depositadas nas placas com vermiculita. Após serem submetidas aos tratamentos, foram acondicionadas por sete dias (desenvolvimento pupal médio) em BOD, com condições semiclimatizadas (26 ± 2 °C, 70 ± 10% e fotofase de 12 horas) e, decorrido esse tempo, as avaliações foram feitas a cada 24 horas por oito dias, sendo observados os insetos emergidos e sua viabilidade, com consequente mortalidade das pupas.

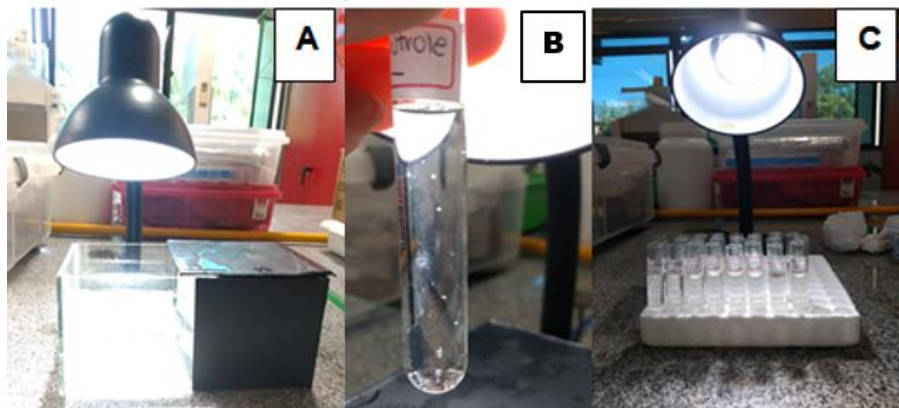
### **Toxicidade preliminar frente à *A. salina***

No Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco foi realizada a análise de toxicidade preliminar do óleo essencial em *A. salina*, utilizando a metodologia sugerida por Meyer et al. (1982). Para isso, foi preparada uma solução salina para eclosão dos ovos da *A. salina* na concentração de 38 g L<sup>-1</sup>. Após isso, foram pesadas 20 mg de ovos e colocadas para eclodir por 48 h em uma cuba dividida em duas partes, um ambiente escuro e um ambiente claro,

separado por um isopor com furos, contendo 1 L de água salina e mantidos a 25° C para a migração dos náuplios para a parte clara da cuba, iluminada durante todo o período. Após a eclosão dos ovos, foram transferidas 10 náuplios de artêmias para tubos de ensaio, contendo a solução do óleo, onde 180 mg de óleo foi diluído em 90 mL de água salina. Em seguida foram realizadas as diluições a fim de obter seis concentrações: 50, 100, 250, 500 e 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As diluições foram feitas com um volume final de 4,5 mL. Para o controle negativo foi utilizada a solução salina e o controle positivo foi realizado utilizando Paracetamol 800 mg L<sup>-1</sup>.

Os tubos de ensaio foram mantidos a 25° C com incidência de luz constante. A avaliação da viabilidade dos náuplios foi após 24 e 48 horas (Figura 02). O resultado expresso em CL<sub>50</sub> e a taxa de letalidade dada em porcentagem a partir da quantidade de artêmias vivas observadas.

**Figura 02:** Teste de toxicidade preliminar em *Artemia salina*: a) cuba usada para eclodir os ovos; b) transferência das artêmias para as concentrações; c) experimento pronto.



Fonte: arquivo pessoal.

### **Análise dos constituintes químicos do óleo essencial**

O óleo essencial de *C. hastata* foi encaminhado ao Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo - Instituto de Química/USP para análise dos constituintes químicos. A caracterização dos componentes majoritários foi realizada utilizando-se um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu®, GCMS-QP2020) (CG-EM). A coluna foi aquecida a partir de uma temperatura inicial de 50° C até a temperatura final ser de 280° C. Os constituintes foram identificados comparando-se os espectros e os fragmentos de massa obtidos na análise cromatográfica com os bancos de dados das bibliotecas espectrais



NIST14s.bi, disponível no software do equipamento.

### **Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade. A estatística da toxicidade preliminar em *A. salina* foi obtida utilizando uma regressão não linear com intervalo de confiança de 95% no Software GraphPad Prism 8.0.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Rendimento do óleo essencial**

Após a extração do óleo essencial da casca do caule da *C. hastata*, quantificou-se um rendimento de 0,035%, utilizando 800 g de casca, coletando 0,5 mL (volume) e 0,28 g (massa) de óleo.

Segundo Ribeiro et al. (2018), o rendimento do óleo essencial é um fator muito importante para determinar a viabilidade de estudo das espécies como fontes de substâncias bioativas, caso seja necessário o isolamento desta, ou ainda que o óleo essencial apresente atividade equiparada à da substância isolada. Assim, o estudo do rendimento do óleo essencial torna-se uma ferramenta necessária para os produtores, pois a partir desse estudo é possível estimar quanto de biomassa é necessária para produzir uma quantidade de óleo satisfatória.

De acordo com Bessa (2017), dentre os diversos fatores que influenciam a síntese de metabólitos secundários, a sazonalidade é um dos mais expressivos com relação às variações na quantidade e natureza dos constituintes ativos das plantas, além da época em que é coletado; a idade e o desenvolvimento das plantas; a temperatura; a chuva ou a seca pode provocar alterações fisiológicas nas plantas tais como fotossíntese, crescimento, mobilização de reserva e expansão foliar, alterando assim no metabolismo secundário; entre outros.

### **Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial da *C.hastata***

Os constituintes químicos do óleo essencial da *C. hastata* foram identificados e quantificados, e seus respectivos resultados de compostos majoritários estão expressos na Tabela 01.



A cromatografia revelou que o óleo da espécie analisada apresenta um grupo de compostos principais raros em óleos essenciais, alguns dos quais já têm citado na literatura, como isotiocianatos e nitrilas representando 67,56% (Tabela 01). Esses compostos são identificados nos óleos essenciais de alimentos como a mostarda, que funcionam como conservantes naturais devido a sua atividade antimicrobiana e antioxidante (CARVALHO et al., 2021).

**Tabela 01:** Principais compostos apresentados na *C. hastata*.

Espécie	Principais compostos	Área (%)
<i>C. hastata</i>	Hexanonitrilo	30,38 %
	Isopropil isotiocianato	25,88 %
	4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo	11,30 %

Em seu trabalho, Carvalho et al. (2021) por meio do óleo essencial das vagens da *Cynophalla flexuosa* identificaram como componentes majoritários: 2-pentanona 4-hidroxi-4-metil (30,1 %); éster butílico de ácido acético (16,6 %); butanonitrilo, 3-metil (15,2 %); e isopropil isotiocianato (13,6 %), além dos demais compostos como 4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo (1,9 %); e hexanonitrilo, 5-metil (1,56 %) corroborando com a identificação fitoquímica do presente trabalho.

Os glicosinolatos, devido as suas características estruturais, fazem parte da classe dos glicosídeos, sendo metabólitos secundários cujas propriedades únicas foram observadas no início do século XVII e despertam interesse até os dias atuais (VALÉRIO, 2017). Entre seus produtos de hidrólise estão os isotiocianatos e nitrilas.

Além disso, Souza (2020) reforça que na família Capparaceae, os glicosinolatos ( $\beta$ -tioglicosídeo-N-hidroxissulfato) que tem por característica estrutural a presença de enxofre, podem ser considerados os mais importantes, pois além de compor um dos principais mecanismos químicos de defesa do organismo vegetal, esta classe de grande diversidade de estruturas, está intimamente relacionada a biossíntese de compostos biologicamente ativos, os quais vem sendo estudados contra diferentes tipos de câncer, doenças neurodegenerativas, entre outros.





## Avaliação da toxicidade preliminar frente à *A. salina*

O microcrustáceo de água salgada, *A. salina* Leach é comumente adotada para ensaios de toxicidade devido à simplicidade de manuseio e baixo custo, favorecendo seu uso em diversos estudos. Assim, é possível determinar por ensaios de toxicidade, a concentração letal mínima para causar a morte de 50% da população ( $CL_{50}$ ) dos compostos bioativos.

O resultado do teste de toxicidade preliminar frente à *A. salina* está expresso na Tabela 02.

**Tabela 02:** Concentração letal 50 em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  do óleo essencial da casca do caule de *C. hastata* frente à *A. salina*.

Amostra	$CL_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	
	Após 24h	Após 48h
Óleo essencial ( <i>C. hastata</i> )	4,45	4,45

A relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média ( $CL_{50}$ ) apresentada por extratos de plantas (produtos naturais) sobre *A. salina* foi avaliada por MCLAUGHLIN, CHING-JER e SMITH (1993) e BONFIM (2020). Os autores classificam de acordo com sua  $CL_{50}$  em três classes: que apresentam toxicidade baixa ( $CL_{50} \geq 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), toxicidade moderada ( $CL_{50} 100 \geq 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), elevada toxicidade ( $CL_{50} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Diante disso, na avaliação, observou-se uma forte toxicidade do óleo essencial da casca da *C. hastata*, onde nas primeiras 24 horas causou uma  $CL_{50}$  de  $4,45 \mu\text{g mL}^{-1}$ , com mortalidade de quase todos os náuplios. Devido a essa forte toxicidade, o método não apresentou sensibilidade suficiente para obter os resultados com desvio padrão de média e coeficiente de variância.

Como visto, conforme CARVALHO et al. (2019) e SOUZA (2020), os glicosinolatos fazem parte das principais classes de metabólitos secundários encontrados na família Capparaceae, com a presença de enxofre em sua estrutura e como produtos de sua hidrólise estão os isotiocianatos e nitrilas que tem despertado interesse na medicina, devido ao seu potencial citotóxico em células cancerígenas, o que pode estar atrelado a forte toxicidade em *A. salina*. Desse modo, os testes com artêmias são comumente correlacionados a atividade citotóxica, assim, uma amostra que é altamente tóxica em testes como esses, apresenta provavelmente bom potencial anticancerígeno, supondo que a espécie se demonstra promissora para a descoberta



de novos fármacos antitumorais derivados de plantas.

Ao observar um dos únicos trabalhos acerca da espécie *C. hastata* (Jacq.) J. realizado por Cordeiro (2017), os resultados da determinação da CL<sub>50</sub> da planta, com extrato bruto seco tanto das folhas, como da casca, mostraram que os extratos são atóxicos nas concentrações testadas frente a *A. salina*, que consolidou com o trabalho realizado por Melo et al. (2021), concluindo diante dos valores alcançados (CL<sub>50</sub> = 1.745,1415 µg mL<sup>-1</sup>), que o extrato vegetal das folhas da *C. hastata* não possui toxicidade relevante.

Apesar disso, de acordo com Carvalho et al. (2021), o óleo essencial das vagens da *C. flexuosa*, espécie do mesmo gênero, apresentou alta toxicidade frente à *A. salina*, com CL<sub>50</sub> de 97,54 µg mL<sup>-1</sup>, além de apresentar na análise fitoquímica, isotiocianatos e nitrilas, o que corrobora com os resultados do presente trabalho. A toxicidade dos isotiocianatos é atribuída à sua natureza eletrofílica e lipofílica, e por essa razão esse composto atravessa as membranas celulares e alcança o ambiente intracelular (VALÉRIO, 2017). O potencial citotóxico das nitrilas está diretamente relacionado à sua estrutura, pois estudos apontam que os compostos que contêm enxofre, anéis aromáticos ou possuem cadeias mais longas têm maior toxicidade (CARVALHO et al., 2021).

Vale ressaltar que, a maioria dos compostos ativos de uma planta está presente em maior quantidade nos óleos essenciais e essas substâncias geralmente não se encontram em estado puro, mas complexadas, cujos componentes se completam, reforçando sua ação, considerada assim uma das vantagens na sua utilização. Acrescenta-se que, os óleos essenciais e extratos vegetais diferenciam-se pelo método de extração utilizado, onde todos os órgãos do vegetal podem acumular óleos essenciais, todavia, sua composição pode variar segundo sua localização na estrutura da planta (ZACARÃO, 2013).

Á vista disso, é importante o desenvolvimento de novos estudos com a espécie, visando avaliar a toxicidade do óleo em animais superiores, uma vez que os testes com *A. salina* são utilizados para direcionar outros testes de toxicidade, por ser um método preliminar e de baixo custo (TAVARES, 2021).

### **Avaliação da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da *C. capitata***

Os resultados da atividade do óleo essencial da casca da *C. hastata* estão



expressos em percentual (%) de mortalidade de pupas da *C. capitata* na tabela 03, apresentando resultados promissores.

Os dados mostram que no controle (solução de Tween 80 a 2%) houve maior emergência de moscas em relação aos demais tratamentos, o que evidencia a interferência do óleo essencial na emergência dos insetos adultos. Desde a menor concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> houve mortalidade de pupas em torno de 50%, ou seja, metade dos insetos não emergiram até 15º dia de análise. Há um destaque para as maiores concentrações de 40,0 e 80,0 mg L<sup>-1</sup> que provocaram a não emergência de 76,67% e 80%, respectivamente (Tabela 03).

**Tabela 03:** Percentual de mortalidade de pupas de *C. capitata*, em relação ao desenvolvimento pupal médio (15 dias) e tempo de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial, obtido da casca da *C. hastata*.

Concentrações mg L <sup>-1</sup>	Insetos Emergidos	Mortalidade de Pupas (%)
80,0	20,00 <sup>b</sup>	80,00 <sup>a</sup>
40,0	23,33 <sup>b</sup>	76,67 <sup>a</sup>
20,0	33,33 <sup>b</sup>	66,67 <sup>a</sup>
10,0	43,33 <sup>b</sup>	56,67 <sup>a</sup>
5,0	53,33 <sup>ab</sup>	46,67 <sup>ab</sup>
2,5	48,33 <sup>b</sup>	51,67 <sup>a</sup>
Controle	90,00 <sup>a</sup>	10,00 <sup>b</sup>

1. Médias Seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

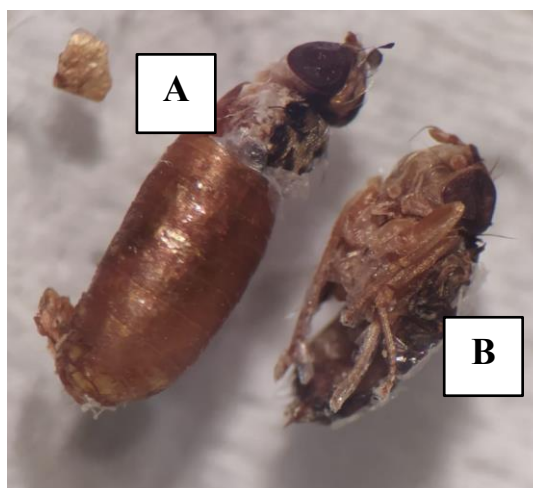
No verão o período pupal varia de 10 a 12 dias, podendo chegar até 20 dias no inverno (GALLO et al., 2002). No presente trabalho, ao analisar se o OE influenciou no tempo da fase pupal, observou-se uma variação de 8 a 10 dias, onde a partir disso, até o 15º dia, não houve mais emergência de adultos. Casos de insetos inviáveis não foram observados, onde todos os insetos emergidos estavam aptos (Figuras 03 e 04).

**Figura 03:** Características das pupas da *C. capitata* sem emergência de adultos após a aplicação das concentrações do óleo essencial da casca da *C. hastata*, configurando em mortalidade.



Fonte: arquivo pessoal.

**Figura 04:** Mortalidade das pupas da *C. capitata* após a aplicação do óleo essencial da casca da *C. hastata*: a) adulto tentando emergir; b) inseto retirado da pupa que não houve emergência.



Fonte: arquivo pessoal.

De acordo com Silva, Sato e Raga (2019), os primeiros estádios larvais e das ninfas dos insetos afetados por extratos vegetais perduram, às vezes, por três semanas em um mesmo estágio, até que morram, enquanto que o quarto e o quinto estádios larvais podem conseguir empupar, mas os adultos emergem com as asas deformadas ou outras deficiências.

As plantas possuem substâncias cujas moléculas possuem ação fagoinibidora, repelente, larvicida inseticida, além de serem capazes de alterar a regulação do crescimento (PEREIRA et al., 2022). Silva, Sato e Raga (2019) enfatiza que o modo de ação dos inseticidas pode ser por contato ou ingestão e àqueles que agem por contato caracterizam-se pela sua atuação principal, quando é absorvido através do tegumento do inseto.

Segundo Silva et al. (2017), as propriedades biológicas dos glicosinolatos são



atribuídas aos metabólitos resultantes da hidrólise enzimática (isotiocianatos e nitrilas) que têm demonstrado tanto efeitos benéficos, tais como atividades antifúngicas, inseticidas, herbicida, antiproliferativo e antibacteriana. Além disso, os autores afirmam que essa classe tem papel importante na defesa da planta contra insetos herbívoros, onde convertidos pela enzima mirosinase a isotiocianatos e nitrilas são tóxicas para o inseto agressor, quando o tecido vegetal é rompido. Ainda assim, Ayoma e Labinas (2012), mostram que os glicosinolatos apresentam função repelente, tóxica, irritante e antibiótico e são caracterizados como corrosivos e amargos, em especial os isotiocianatos.

Embora os isotiocianatos sejam compostos benéficos para os seres humanos, para os insetos considera-se que são compostos ofensivos à vida dos mesmos, devido à sua natureza eletrofílica e lipofílica (VALÉRIO, 2017). Segundo Morais e Marinho-Prado (2016), quanto maior a capacidade do composto em se ligar à camada lipídica (lipofilicidade), maior será a penetração deste no tegumento do inseto, onde estes podem ter ação fumigante, podem penetrar no interior do corpo do inseto como inseticida de contato, agir como repelentes ou afetar parâmetros biológicos e interferir na reprodução dos insetos.

Em relação às nitrilas, sua função biológica ainda é pouco compreendida, todavia por possuir enxofre em sua estrutura, pode atrelar um potencial citotóxico (VALÉRIO, 2017; CARVALHO et al., 2021).

Sabe-se que dentre os sítios de ação dos inseticidas, estão os neurotóxicos que atuam na transmissão sináptica, inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE) no sistema nervoso central (VORIS, 2018) e aumentando o nível de acetilcolina na sinapse causando hiperexcitabilidade devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos: incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do sistema nervoso central e morte. Como exemplos de compostos químicos que são utilizados em agropecuária como inseticidas, estão os organofosforados e carbamatos. A acetilcolina é um mediador químico, necessário para transmissão dos impulsos nervosos, presente nos mamíferos e insetos e quando a AChE é inibida acontece paralisia do sistema nervoso central e morte dos insetos (VITÓRIO; SOUSA; AZEVEDO-FRANÇA, 2021). Os insetos resistentes apresentam mutações na conformação do sítio ativo da AChE, impedindo a ligação do inseticida com a enzima,



não ocorrendo a inativação da mesma, diminuindo, assim, a sensibilidade por estes inseticidas (VORIS, 2018).

Em conformidade, Carvalho et al. (2021), afirmam que o óleo essencial da *C. flexuosa* apresentou forte inibição da acetilcolinesterase com  $IC_{50}$   $7,9 \mu\text{g mL}^{-1}$ , cujo resultado é correlacionado à presença dos isotiocianatos no óleo, com a identificação de 2-pentanona 4-hidroxi-4-metil (30,1 %); éster butílico de ácido acético (16,6 %); butanonitrilo, 3-metil (15,2 %); e isopropil isotiocianato (13,6 %).

Diante do exposto, acredita-se que os compostos marjoritários identificados no óleo da *C. hastata* durante essa pesquisa como o isopropil isotiocianato (25,88 %), hexanonitrilo (30,38 %) e 4,4-dimetil-3-oxopentanonitrilo (11,30 %), agem inibindo a AChE nos insetos, o que possivelmente pode ter levado a morte e o retardo das pupas.

## CONCLUSÕES

Apesar do baixo rendimento do óleo essencial de 0,035%, a composição química revelou importantes classes químicas raras em óleos essenciais, com potencial extraordinário para a indústria farmacêutica.

A  $CL_{50}$  de  $4,45 \mu\text{g mL}^{-1}$  obtida do óleo essencial da *C. hastata* indicou possível potencial para desenvolvimento biotecnológico de formulações farmacêuticas, com especial atenção a ação antitumoral. Com a finalidade de validar, cada vez mais, o seu uso na medicina popular, são importantes mais estudos e testes alternativos para melhor elucidação da forte toxicidade relatada nesse trabalho, visando avaliar este comportamento em animais superiores.

O bioensaio frente à mosca-da-fruta revelou potencial inseticida, nas maiores concentrações de 40,0 e 80,0  $\text{mg L}^{-1}$  provocou a não emergência de 76,67% e 80%, respectivamente, sendo consideradas as melhores, onde no controle (solução de Tween 80 a 2%) houve maior emergência de moscas em relação aos demais tratamentos, o que evidencia a interferência do óleo essencial na emergência dos insetos adultos.

A pesquisa contribui para o conhecimento e conseqüente valorização de propriedades ricas e raras da *C. hastata*, planta da Caatinga que ainda é pouco citada e discutida na literatura.

## REFERÊNCIAS



ALVES, J.C. **Hidrofóbicas ou hidrofílicas: como as folhas de espécies caducifólias e sempre verdes da caatinga se comportam?** 33f.2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Ceará, 2017.

AOYAMA, E.M.; LABINAS, A.M. Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, p.365-386, 2012.

BESSA, C.M.A.S. **Isolamento, caracterização e aplicação de metabólitos secundários de folhas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb) Altschul (Fabaceae: Mimosoideae).** 163f. 2017. Tese (doutorado). Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, PE, 2017.

BOMFIM, E.M.S.; SANTOS, T.G.; CARNEIRO, A.S.O.; SILVA, M.C.; MARQUES, E.J.; VALE, V.L.C. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and chemical profile of species of *Miconia Ruiz & Pav.*, *Clidemia* D. Don and *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v.14, p.1-6, 2020.

CARTAXO, P.H.A. **Óleos essenciais no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).** Monografia (Graduação em Agronomia). 34f.2020. Universidade Federal da Paraíba/CCA, Areia, 2020.

CARVALHO, N.K.G.; CAMILO, C. J.; MENDES, J. W. S.; NONATO, C.F.A.; DANTAS, A.R.; LEITE, D.O.D.; LIMA, D.S.; DIAS, F.J.; TEIXEIRA, V.F.; RODRIGUES, F.F.G.; RODRIGUES, F.F.G.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M. **Caracterização química e toxicidade do óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl.** In: 10º Simpósio Brasileiro de óleos essenciais. Brasília, DF.2019.

CARVALHO, N.K.G.; CAMILO, C.J.; NONATO, C.F.A.; LEITE, D.O.D.; RODRIGUES, F.F.G.; ALVES, D.R., MORAIS, S.M.; COSTA, J.G.M. Essential Oil of *Cynophalla flexuosa* and its; Cytotoxicity, Antioxidant, and Anti-Acetylcholinesterase Effect. **Chemistry of Natural Compounds**, v.3, p.480-482, 2021.

CORDEIRO, B.A. **Avaliação antimicrobiana e análise toxicológica a partir do extrato bruto seco das folhas e da casca de feijão-bravo (*Cynophalla hastata* (jacq.) J. Presl).** Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário Tabosa de Almeida/ASCES-UNITA. 2017.

PAIVA, A.M.R.; SOUZA, A.S.Q.; PEREIRA, R.C.A.; RIBEIRO, P.R.V.; ZOCCOLO, J.G.; BRITO, E.S; PESSOA, ODL & CANUTO, KM (2017). **Isolamento e caracterização química do glicosinolato epi-progoitrina de *Crambe abyssinica*.** Embrapa Agroindústria Tropical - Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 133, 21 f.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; MONTEIRO, A.F.M.; SILVA, I.M.; GOMES, L.P. Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. **Revista Agro@ambiente On-line**, 11(3):232-240, 2017.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.D.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.G.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES,



J.R.S.; OMOTO, C. **Manual de Entomologia Agrícola**. Vol. 10. São Paulo - SP: Agronômica Ceres. 531 p. 2002.

GONZAGA, K.S. **Óleos essenciais e fungos no manejo de mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata*) (wied, 1824) e influência na qualidade de frutos da goiabeira**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba/Centro de Ciências Agrárias Areia, 60 p.2019.

LEANDRO, R.S. **Letalidade de *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) submetida a diferentes extratos vegetais**. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba/CCA, Areia, 41p.2019.

LEITE, A.S.; COSTA, D.R.; RIBEIRO, A.E.L.; MOREIRA, A.A.; SÁ NETO, R.J. ; CASTELLANI, M.A. Preferência na oviposição e performance biológica de *Ceratitis capitata* em frutos de Anacardiaceae, Cactaceae e Vitaceae. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.8, p.6:1-8, 2019.

LIMA, M.F.F.; SILVA, J.W.S.A.; SILVA, J.K.; MOURA, A.H.N.; LOPES, R.L.F.; CORDEIRO, B.A. Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach de espécimes vegetais pertencentes à Caatinga. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, 2:5950-5963, 2019.

MAGALHÃES, J.C.M. **Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em fragmentos florestais de cerrado no Brasil central: biodiversidade e padrões populacionais**. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, 78p. 2019.

MCLAUGHLIN, J.L.; CHING-JER, C.; SMITH, D.L. **Simple Bench-Top Bioassays (Brine Shrimp and Potato Discs) for the Discovery of Plant Antitumor Compounds Review of Recent Progress**. In: Human Medicinal Agents from Plants; Kinghorn. [s.l: s.n.]. 112-137. 1993.

MEDEIROS, M.R.M.; BATISTA, M.S.S. **O ensino do bioma caatinga em uma perspectiva contextualizada e interdisciplinar**. In: Congresso Internacional de Educação e Inclusão. Anais CINTEDI. Campina Grande: Editora Realize.2014.

MELO, E.R.D.; SILVA, J.G.; NASCIMENTO, E.R.; FRAGA, G.G.A.S.; SANTOS, M.L.S.; ASSIS, P.V.; SILVA, S.M.F.; CORDEIRO, R.P. Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach e determinação da fragilidade osmótica eritrocitária de espécimes vegetais pertencentes à Caatinga. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, p.71959-71976, 2021.

MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine shrimp: A conveniente general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, p.31-34, 1982.

MORAIS, L.A.S; MARINHO-PRADO, J.S. **Plantas com Atividade Inseticida. Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Embrapa, 542-593. 2016.

OLIVEIRA, M.E.A.; NASCIMENTO, M.P.S.C.B.; ARAÚJO NETO, R.B. *Cynophalla*





***hastata*: Feijão-bravo.** In: CORADIN, L; CAMILLO, J & PAREYN, FGC (Ed.). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste*. Brasília, DF: MMA. Série Biodiversidade, v.51, p. 696-699, 2018.

PEREIRA, E.B.S.S.; SOUZA, E.M.; COSTA, E.C.; LORENZO, V.P.; JESUS, FN(2022) Atividade larvicida do extrato aquoso e do hidrolato das folhas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan sobre o *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Revista Semiárido De Visu*, v.1 p.32-45, 2022.

RIBEIRO, S.M.; BONILLA, O.H.; LUCENA, E.M.P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, v,73, p.31-38, 2018.

ROSA, C.S.; MORAES, D.F.C. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. *Revista Brasileira Plantas Medicinai*s, v.18, p.19-26, 2016.

SANTOS, M.D. **Descrição de novas espécies de ácaros edáficos da família Rhodacaridae e predação de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) com *Macrocheles roquensis* Mendes e Lizaso (Acari: Macrochelidae).** 2018. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo-Alagoas, 90p.2018.

SANTOS, R.P. **Potencial inseticida de plantas encontradas na Caatinga sobre *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, 31p. 2019.

SILVA, S.B.; SATO, M.E.; RAGA, A. Uso de extratos naturais no controle de insetos, com ênfase em moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). *Biológico*, v.81, p.1-30, 2019.

SÁ, M.S.; SILVA, J.R.N.; SANTOS, K.L. (2020). **Perfil fitoquímico do extrato foliar de plantas de uso forrageiro e medicinal na caatinga: verificação da sua efetividade.** Recife. V Congresso Internaonal das Ciências Agrárias - COINTER PDVAgro.

SILVA, C.P.; RICCI, T.G.; ARRUDA, A.L.; PAGLIOSA, F.M.; MACEDO, M.L.R. **Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado SulMatogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida: Plants Extract from Cerrado Sul-Matogrossense with Bioherbicide and Bioinsectice Potential.** *Uniciências, Paraná*, v.21, p.25-34, 2017.

SOUZA, T.A. Estudo fitoquímico de *Neocalyptrocalyx longifolium* Mart. Cornejo & Iltis (Capparaceae). 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB. 99p. 2020.

SOUZA, E.M; PEREIRA, E.B.S.S.; MIRANDA, I.S. (2021). **CAPPARACEAE (Feijão-bravo).** In: SOUZA, E. M. (Organizadora). *Plantas da Caatinga: um olhar multidisciplinar*. IFSertãoPE - Petrolina, PE, p.94-98.

TAVARES, Y.K.C. (2021). **Agentes bacterianos da Caatinga: um estudo fito- químico e biológico de *Lippia grata* e *Lantana cf. pohliana*.** Trabalho de Conclusão de



Curso. IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, 71p.2021.

VALÉRIO, S.H. (2017). **Glicosinolatos: Estrutura Química, Mecanismo de Ativação Enzimática e Atividade Biológica**. Monografia (Graduação). Universidade Federal São João Del-Rei, 24p.

VITÓRIO, F.; SOUSA, G.L.S.; AZEVEDO-FRANÇA, J.A. Produtos naturais como promissores inibidores da acetilcolinesterase: **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 17, p. 797-809, n. 4, 2021.

VORIS, D.G.R. (2018). **Estudos etnofarmacológicos de óleos essenciais como inseticidas e repelentes contra o mosquito *Aedes aegypti***. Dissertação (Mestrado). Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 101p.2018.

ZACARÃO, P.C. (2013). **Estudo da propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais de alho (*Allium sativum*), pimenta do reino (*Piper nigrum*) e pimenta rosa (*Schinus molle*) para aplicação em cortes de frango temperados**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma/SC, 12p.

### Agradecimentos

Primeiramente a Deus pela sabedoria e saúde. Ao IFSertãoPE pela bolsa concedida. A Prof<sup>a</sup>. Dra. Elizângela Maria de Souza pela orientação do projeto. Ao Prof<sup>o</sup>. Fábio Nascimento pelo auxílio na estatística. A Técnica Miriam da Moscamed Juazeiro-BA, por disponibilizar larvas.