

Evaluación larvica de extractos obtenidos de vegetación de transición Cerrado-Caatinga contra *Aedes aegypti*

Avaliação larvica dos extratos obtidos da vegetação de transição Cerrado-Caatinga contra *Aedes aegypti*

Larvicidal evaluation of Cerrado-Caatinga transition vegetation extracts against *Aedes aegypti*

Maurício Conceição Santos¹ <https://orcid.org/0000-0003-2008-4304>

Anny Karolline Pinto Cordeiro¹ <https://orcid.org/0000-0003-0176-5710>

Caliene Melo de Andrade Silva¹ <https://orcid.org/0000-0003-3099-6905>

Ana Maria Mapeli² <https://orcid.org/0000-0002-6028-1989>

Paulo Roberto de Souza Moura Filho¹ <https://orcid.org/0000-0001-9083-8226>

Jairo Torres Magalhães Junior^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-2120-5235>

¹Universidade Federal do Oeste da Bahia– UFOB, Centro Multidisciplinar do Campus da Barra, Barra, BA, Brasil.

²Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Barreiras, BA, Brasil.

*Autor correspondente: jairo.magalhaes@ufob.edu.br Cel.: 71 99204-7561

RESUMEN

Introducción: *Aedes aegypti*, es responsable de la transmisión de varias enfermedades infecciosas a las poblaciones humanas.

Objetivo: Evaluar el efecto larvica de extractos vegetales obtenidos de vegetación de transición Cerrado-Caatinga contra *Aedes aegypti*.

Métodos: Se utilizaron extractos de once plantas región de transición Cerrado-Caatinga para evaluar su efecto sobre las larvas del mosquito vector. Para obtener los extractos, se emplearon diferentes partes de las plantas, incluyendo hojas,

semillas, corteza y pulpa. Las pruebas larvicidas se llevaron a cabo utilizando diferentes concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250 ppm, y la mortalidad larvaria se registró en un intervalo de tiempo entre 24 y 48 horas.

Resultados: Los resultados obtenidos muestran que solo cuatro de los extractos utilizados: *Passiflora cincinnata* (pulpa), *Copaifera luetzelburgii*, *Mormodica charantia* y *Eugenia dysenterica*, lograron identificar la dosis capaz de matar al 50% y 90% de la población de insectos, siendo la *Passiflora cincinnata* la que presentó mejores resultados, al obtener una tasa de mortalidad superior al 50%, de los extractos evaluados.

Conclusiones: Algunos extractos utilizados en bioensayos larvicidas mostraron potencial en el uso contra el *Aedes. aegypti*.

Palabras clave: Insecticida, control de mosquitos, fitoquímicos.

RESUMO

Introdução: *Aedes aegypti*, é responsável pela transmissão de várias doenças infecciosas para as populações humanas.

Objetivo: Avaliar o efeito larvicida de extratos de plantas obtidos da vegetação de transição Cerrado-Caatinga contra o *Aedes aegypti*.

Métodos: Para testar o efeito nas larvas do mosquito vetor, foram utilizados extratos de onze plantas encontradas na região de transição Cerrado-Caatinga. As espécies avaliadas, as partes das plantas usadas e o tipo extrato obtido foram respectivamente: *Anacardium* sp. - folha e pseudofruto - extrato de etanol; *Passiflora cincinnata* - folha- extrato de etanol, polpa - extrato de acetato de etila e semente - extrato hexânico; *Eugenia dysenterica* - folha- extrato hidroalcoólico; *Mimosa tenuiflora* - casca - extrato de etanol; *Mimosa verrucosa* - casca- extrato de etanol; *Mimosa ophthalmocentra* - casca - extrato de etanol; *Copaifera depilis* - folha - extrato de etanol; *Copaifera luetzelburgii* - folha - extrato de etanol; *Piptadenia moniiformis* - folha - extrato de etanol; *Momordica charantia* - folha - extrato de etanol e *Solanum paniculatum* - folha - extrato hidroalcoólico. As concentrações testadas para cada extrato foram: 50, 100, 150, 200 e 250ppm.

Resultados: Os resultados obtidos demonstram que dos extratos utilizados apenas quatro: *Passiflora cincinnata* (polpa), *Copaifera luetzelburgii*, *Mormodica*

charantia e *Eugenia dysenterica*, obtiveram êxito na identificação da dose capaz de matar 50 % e 90 % da população de insetos, sendo a *Passiflora cincinnata* a que apresentou melhores resultados, obtendo taxa de mortalidade acima de 50 %, dos extratos avaliados.

Conclusão: Alguns extratos utilizados nos bioensaios larvicidas demonstraram potencial na utilização do controle de *Ae. aegypti*.

Palavras chave: inseticida; controle de mosquitos; fotoquímicos

ABSTRACT

Introduction: *Aedes aegypti* is responsible for the transmission of several infectious diseases to human populations.

Objective: To evaluate the larvicidal effect of plant extracts obtained from Cerrado-Caatinga transition vegetation against *Aedes aegypti*.

Methods: Extracts from eleven plants from the Cerrado-Caatinga transition region were used to evaluate their effect on mosquito vector larvae. Different parts of the plants were used to obtain the extracts, including leaves, seeds, bark and pulp. Larvicide tests were carried out using different concentrations of 50, 100, 150, 200 and 250 ppm, and larval mortality was recorded at a time interval between 24 and 48 hours.

Results: The results show that only four of the extracts used: *Passiflora cincinnata* (pulp), *Copaifera luetzelburgii*, *Mormodica charantia* and *Eugenia dysenterica* were able to identify the dose capable of killing 50% and 90% of the insect population, with *Passiflora cincinnata* being the one that presented the best results, obtaining a mortality rate of more than 50% of the extracts evaluated.

Conclusions: Some extracts used in larvicide bioassays showed potential in the use against *Aedes aegypti*.

Keywords: insecticide; mosquito control; phytochemicals.

Recibido: 29/07/21

Aceptado: 17/07/23

Introdução

Aedes aegypti, é responsável pela transmissão de várias doenças infecciosas como dengue, febre amarela urbana, Chikungunya e Zika. Diante da problemática, o controle do mosquito vetor tornou-se um dos maiores desafios para a Saúde Pública especialmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, onde o vetor está amplamente distribuído, mesmo após a adoção de várias medidas para o seu controle, é latente observar a ineficácia dos mesmos.⁽¹⁾ Nesse contexto, visando identificar alternativas para o controle do inseto, várias pesquisas são realizadas com o objetivo de buscar novos meios para se obter um equilíbrio populacional dos mosquitos. As metodologias empregadas para o controle vetorial, vão desde⁽¹⁾ o controle mecânico destruindo os possíveis criadouros ou protegendo locais susceptíveis onde a fêmea possa ovipositar,⁽²⁾ o controle utilizando compostos químicos como os organofosforados, piretróides ou até mesmo controle biológico; ou⁽³⁾ o uso de óleos essenciais extraídos de plantas que possuem a capacidade larvicida e/ou inseticida.⁽²⁾

O uso de óleos essenciais pode ser utilizado como uma alternativa ao controle químico, uma vez que o uso constante de larvicidas convencionais como os organofosforados, ao longo do tempo pode selecionar indivíduos resistentes inviabilizando o uso destes compostos.⁽¹⁾ O emprego de bioinseticidas apresentam algumas vantagens, quando comparados aos inseticidas convencionais. O Brasil apresenta uma enorme diversidade de espécies de plantas da Caatinga e do Cerrado com potencial de servir como fonte de moléculas ativas contra mosquitos *Aedes. Aegypti*.⁽³⁾ Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade larvicida dos extratos de plantas obtidos da vegetação de transição Cerrado-Caatinga contra *Aedes. aegypti*.

Métodos

As larvas utilizadas nos testes, foram obtidas a partir de ovos de *Aedes. aegypti* coletados no município de Barra e mantidos por diversas gerações em colônia estabelecida no laboratório do Centro Multidisciplinar Campus de Barra –

Universidade Federal do Oeste da Bahia, onde os experimentos foram conduzidos em condições ambientais controladas.

Para realização dos bioensaios larvicidas, foram utilizados diferentes extratos obtidos de plantas oriundas da vegetação de transição dos biomas cerrado-caatinga, (tabela 1).

Tabela 1- Caracterização das plantas e o tipo de extrato utilizado nos bioensaios de atividade larvicida el punto

Família	Espécie	Parte da planta	Extrato natural
Anacardiaceae	<i>Anacardium sp.</i>	Folha	Etanol
		Pseudofruto	Etanol
Passifloraceae	<i>Passiflora cincinnata</i>	Folha	Etanol
		Polpa	Acetato de etila
		Semente	Hexânico
Myrtaceae	<i>Eugenia dysenterica</i>	Folha	Hidroalcoólico
Fabaceae	<i>Mimosa tenuiflora</i>	Casca	Etanol
	<i>Mimosa verrucosa</i>	Casca	Etanol
	<i>Mimosa ophthalmocentra</i>	Casca	Etanol
	<i>Copaifera depilis</i>	Folha	Etanol
	<i>Copaifera luetzelburgii</i>	Folha	Etanol
	<i>Piptadenia moniiformis</i>	Folha	Etanol
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Folha	Etanol
Solanaceae	<i>Solanum paniculatum</i>	Folha	Hidroalcoólico

Os testes larvicidas foram realizados utilizando o protocolo preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) utilizando larvas de *Aedes aegypti* em 3º e 4º instar.⁽⁴⁾ Durante os testes, as larvas foram submergidas dentro de copos plásticos de 200 ml, contendo 100 ml de água destilada juntamente com o extrato teste. Inicialmente os extratos puros foram diluídos em soluções estoques a 1 %. Para preparar a solução a 1 %, foram usados 300 mg do extrato e adicionado 30 ml do solvente. O metanol foi utilizado como solvente para a maioria dos extratos testados, porém devido à natureza apolar do extrato obtido da semente de *Passiflora cincinnata*, nesta diluição foi utilizado o dimetilsulfóxido (DMSO). Para

o controle negativo foi usada água destilada com adição do solvente utilizado no preparo da diluição. As concentrações pré-estabelecidas de cada extrato foram: 50, 100, 150, 200 e 250 ppm.

Para cada tratamento foram realizadas três réplicas com 25 larvas cada. O efeito larvicida (mortalidade) foi avaliado em dois momentos distintos: 24 e 48 h após o início do teste. Larvas imóveis, mesmo após o leve toque com um bastão e incapazes de submergir, foram consideradas mortas. Os testes foram realizados em condições ambientais controladas (temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$). A análise estatística foi realizada pelo software R.⁽⁵⁾ Foi criado um modelo generalizado com distribuição quasibinomial para estabelecer o melhor tempo de análise (24 ou 48h). Em seguida, foram criados modelos de regressão logística com a proporção de larvas mortas por teste, em cada extrato, para estabelecer a dose-resposta, assim foi utilizado o pacote drc.⁽⁶⁾

Analisando-se os resultados gerais foi possível perceber que os melhores resultados foram detectados em 48h de análise ($t = 6.161, p < 0.001$). Sendo assim, todas as análises posteriores foram feitas com os dados de 48h. Essa inferência é importante para se estabelecer o protocolo adequado.

Os resultados obtidos demonstram que entre os extratos utilizados, o que apresentou o maior efeito larvicida foi o extrato da polpa de *Passiflora cincinnata* nas concentrações de 150, 200 e 250 ppm. Em seguida os extratos de *Copaifera luetzelburgii* (concentrações de 200 e 250 ppm), *Eugenia dysenterica* (concentrações de 200 e 250 ppm), *Momordica charantia* (concentração de 250 ppm), *Anacardium sp.* (concentração de 250 ppm), folha de *Passiflora cincinnata* (concentrações de 200 e 250 ppm), semente de *Passiflora cincinnata* (concentração de 250 ppm) e os extratos da *Solanum paniculatum* e *Copaifera sabulicola* na concentração de 250 ppm obtiveram taxa de mortalidade total muito próxima ou acima de 15 % (tabela 2).

Tabela 2- Representação da mortalidade total (%) nos bioensaios larvicidas contra larvas de *Aedes aegypti* em estádios L3 e L4 utilizando diferentes concentrações de extratos de plantas obtidas da vegetação de transição Cerrado-Caatinga, após avaliação em 48 horas.

Extrato	Concentração				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm
<i>Eugenia dysenterica</i>	0,0	0,0	2,8	26,8	34,8
<i>Copaifera sabolicola</i>	0,0	0,0	0,0	1,2	14,8
<i>Copaifera depilis</i>	0,0	2,7	2,7	1,3	5,2
<i>Copaifera luetzelburgii</i>	0,0	1,2	0,0	36,0	44,0
<i>Solanum paniculatum</i>	1,2	2,8	8,0	2,8	14,8
<i>Passiflora. cincinnata</i> (Folha)	1,2	0,0	1,32	16,0	24,0
<i>Passiflora cincinnata</i> (Polpa)	1,2	21,2	34,8	68,0	80,0
<i>Passiflora cincinnata</i> (Semente)	0,0	0,0	5,2	8,0	18,8
<i>Anacardium sp.</i> (Folha)	0,0	1,2	1,2	5,2	4,0
<i>Anacardium sp.</i> (Pseudofruto)	0,0	4,0	0,0	4,0	32
<i>Mimosa tenuiflora</i>	5,2	8,0	1,2	2,8	13,2
<i>Mimosa verrucosa</i>	0,0	0,0	4,0	2,8	2,8
<i>Piptadenia moniiformis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Momordica charantia</i>	0,0	1,3	18,8	12,0	54,8
Controle negativo com metanol	2,0				
Controle Negativo com DMSO	0				

Discussão

Prophiro y outros⁽⁷⁾ apontam que a eficácia do bioensaio larvicida, depende da concentração do extrato teste bem como, o tempo de exposição das larvas utilizadas.

Durante as revisões de literatura para o desenvolvimento deste trabalho, não identificamos nenhum trabalho relatando o efeito larvicida de *Passiflora cincinnata* contra qualquer espécie de inseto, bem como da sua família (Passifloraceae). Em um estudo avaliando a composição química do extrato hidroalcoólico de *Passiflora cincinnata* foi observado a presença de taninos condensados, flobacênicos, flavonas, flavononóis, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavanonas, leucoantocianidina, catequinas alcaloides.⁽⁸⁾ A caracterização dos componentes químicos de extratos naturais revela a sua importância para determinar o componente responsável pelo efeito tóxico em larvas de mosquitos. *Ghosh* y outros⁽⁹⁾ apontam que os principais metabolitos secundários presentes em diversas espécies de plantas e que possuem algum efeito em larvas de mosquitos são isoflavonóides, alcanos, alcenos, alcinos, terpenos entre outros. A presença de flavonoides e taninos em *Passiflora cincinnata*,⁽⁸⁾ sugerem que estes compostos podem ser os responsáveis pelo efeito tóxico em *Ae. aegypti* observado no nosso estudo, havendo, portanto, uma necessidade de aprofundamento na avaliação deste extrato bem como os efeitos. O efeito larvicida do extrato da folha de *Anacardium sp.* não foi significativo em nenhuma das concentrações avaliadas, contudo, o extrato do pseudofruto de *Anacardium sp.* apresentou taxa de mortalidade de 32 % na concentração mais alta utilizada nos bioensaios (250 ppm). *Carvalho y outros*⁽¹⁰⁾ em estudo avaliando o potencial larvicida de *Anacardium occidentale*, utilizando o líquido da casca da castanha (LCC), foi observado êxito na ação larvicida em diferentes concentrações testadas, comprovando assim o potencial inseticida que plantas do gênero *Anacardium* possuem, podendo se tornar uma alternativa sustentável para o controle de *Aedes. aegypti*. Os extratos de *Copaifera sabulicola* e *Copaifera depilis* demonstraram baixo efeito larvicida nos testes, com exceção do extrato de *Copaifera luetzelburgii* demonstrou efeito tóxico no bioensaio larvicida. Durante as revisões de literatura não identificamos nenhum trabalho utilizando extratos desta

planta que demonstrasse a sua capacidade larvicida. Trintade y outros⁽¹¹⁾ avaliando o efeito fitotóxico de outras espécies de *Copaifera* observaram que os extratos foram eficazes nos testes larvicidas em concentrações baixas sendo a DL50 18 ppm para *Aedes. aegypti* e DL50 de 3 a 13ppm para *Anopheles darlingi*. Mendonça y outros⁽¹²⁾ em avaliação de diferentes extratos vegetais contra *Aedes. aegypti*, observou-se DL50 de 41 µg/ L para o extrato de *Copaifera langsdorffii*. Em comparação com o nosso estudo, observa-se que as doses eficazes foram muito inferiores as que foram utilizadas nestes trabalhos. O extrato hidroalcoólico de *Momordica charantia* utilizado como bioensaio neste estudo, apresentou eficácia somente em concentrações mais altas. Singh y outros⁽¹³⁾ observaram que o extrato vegetal obtido do fruto de *Momordica charantia*, demonstrou efeito fitotóxico contra três diferentes espécies de mosquitos *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*. Na avaliação da dose-resposta dos extratos utilizados nos bioensaios larvicidas, apenas para quatro extratos foi possível estabelecer a dose letal capaz de matar 50 % e 90 % da população (DL50 e DL90), (tabela 3).

Tabela 3 - Representação das doses letais médias (DL50 e DL90), dos bioensaios larvicidas contra larvas de *Aedes aegypti* em estádios L3 e L4 utilizando diferentes extratos de plantas obtidas da vegetação de transição Cerrado-Caatinga.

Extrato	DL50 (µg/mL)	DL90(µg/mL)
<i>Passiflora cincinnata</i> (Polpa)	180,406 ± 39,348	307,592 ± 127,307
<i>Copaifera luetzelburgii</i>	253,848 ± 50,915	365,407 ± 169,322
<i>Mormodica charantia</i>	488.30 ± 1559.83	930.74 ± 3275.69
<i>Eugenia dysenterica</i>	278,414 ± 82,814	413,925 ± 279,454

Oliveira y outros⁽¹⁴⁾ em estudo avaliando o potencial larvicida de plantas encontradas no bioma Caatinga, encontram DL50 de aproximadamente 200µg/L, para os extratos testados. Omena y outros⁽¹⁵⁾ avaliando o efeito fitotóxico de plantas encontradas no bioma Cerrado, observou-se DL 50 <100 µg/ ml⁻¹ em 11 extratos avaliados. Os valores de DL 50 e DL 90 encontrados neste estudo apresentam valores próximos bem como, valores acima de doses letais em comparação aos valores descritos nos trabalhos citados acima. Vale ressaltar, que

a dose-resposta depende do estágio de desenvolvimento das larvas e das condições experimentais.

Diante dos resultados obtidos, o extrato de *Passiflora cincinnata* foi o que apresentou melhores efeitos larvicidas. O tempo de exposição ao extrato, a determinação da dose letal, bem como as concentrações utilizadas nos testes são essenciais para obtenção de resultados satisfatórios. Contudo, é necessário proceder estudos para analisar a composição química dos extratos, bem como identificar o composto responsável pelo efeito tóxico nas larvas.

Referências bibliográficas

1. Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiol e Serviços Saúde. 2007;16(4):279–93.
2. Zara AL, Santos SM, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. Epidemiol. Serv. Saúde. 2016;25(2):391–404.
3. Barbosa PB, de Oliveira JM, Chagas JM, Rabelo LM, de Medeiros GF, Giodani RB *et al.* Evaluation of seed extracts from plants found in the Caatinga biome for the control of *Aedes aegypti*. Parasitol Res. 2014;113(10):3565–80.
4. WHO. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Switzerland, Geneva: Who/Cds/Whopes/Gcdpp/2005.
5. Development Core Team R: uma linguagem e ambiente para computação estatística. Viena, Áustria: R Foundation for Statistical Computing; 2008
6. Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D. Dose-response analysis using R. PLoS One. 2015;10(12):1–13.
7. Prophiro JS, Da Silva Man N, Kanis LA, Da Silva BM, Duque-Luna JE, Da Silva OS. Evaluation of time toxicity, residual effect, and growth-inhibiting property of *Carapa guianensis* and *Copaifera* sp. in *Aedes aegypti*. Parasitol Res. 2012;110 (2):713–9.
8. Albuquerque A, Santiago C, de Araújo G, de Oliveira L, Martins A, Bezerra B. Atividade antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos de *Passiflora cincinnata* Mast. (maracujá-do-mato). Rev Cuba Plantas Med. 2015;19 (4):319–28.

9. Ghosh A, Chowdhury N, Chandra G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian J Med Res.* 2012;135 (5):581-98.
10. Carvalho HF, de Andrade MA, de Araújo CN, Santos ML, de Castro NA, Charneau S, et al. Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. *Environ Sci Pollut Res.* 2019;26(6):5514-23.
11. Trindade TT, Stabeli RG, Pereira AA, Facundo VA, Silva A de A. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Brazilian J Pharmacogn.* 2013;23 (3):464-70.
12. Mendonça AC, Da Silva FS, Dos Santos KK, Ribeiro Júnior AL, Sant'Ana EG. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia.* 2005;76(7-8):629-36.
13. Singh RK, Dhiman RC, Mittal PK. Mosquito larvicidal properties of *Momordica charantia* Linn (Family: Cucurbitaceae). *J Vect Borne Dis.* 2006;43(2):88-91.
14. Oliveira PV., Ferreira JC, Moura FS, Lima GS, De Oliveira FM, Oliveira ES, et al. Larvicidal activity of 94 extracts from ten plant species of northeastern of Brazil against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 2010;107(2):403-7.
15. Omena MC, Navarro MA, de Paula JE, Luna JS, Ferreira de Lima MR, Sant'Ana EG. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Bioresour Technol.* 2007;98(13):2549-56.

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Financiacion

Os autores declaram não haver recebido financiacion