
ALTERAÇÕES MORFO-HISTOLÓGICAS EM LARVAS DE
Aedes aegypti (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA, CULICIDAE)
CAUSADAS PELO TANINO CATÉQUICO ISOLADO DA
PLANTA DO CERRADO *Magonia pubescens* (SAPINDACEAE)

Cleyde Ferreira Barreto Valotto,¹ Gláucia Cavasin,² Heloisa Helena Garcia da Silva,¹ Regina Geris³ e Ionizete Garcia da Silva¹

RESUMO

O controle do *Aedes aegypti* é hoje um dos grandes problemas de saúde pública no Brasil, por ser o principal vetor do dengue e da febre amarela urbana. De origem africana, este mosquito adaptou-se muito bem às condições climáticas brasileiras e se encontra distribuído em todos os estados. Os métodos usuais de combate e controle deste mosquito têm sofrido vários questionamentos. Os inseticidas químicos atualmente utilizados têm levado ao surgimento de populações resistentes de mosquitos, a consequente elevação de sua densidade já desencadeou grandes epidemias de dengue. Substâncias inseticidas de origem botânica podem ser candidatas alternativas ao controle. Este trabalho apresenta, pela primeira vez, as alterações morfo-histológicas causadas pela atividade larvicida do tanino catéquico, extraído de *Magonia pubescens*, nas larvas de *A. aegypti*, mostrando o potencial larvicida deste composto natural. Larvas de terceiro estágio foram submetidas ao tanino catéquico, a 37ppm, solubilizado em água, onde permaneceram por até 24 horas. As larvas que atingiram estado letárgico foram coletadas e fixadas em paraformaldeído a 4% em tampão cacodilato de sódio 0.1M pH 7.2, incluídas em resina, montadas em lâminas, coradas pela hematoxilina-eosina e analisadas por microscopia de luz. Os principais efeitos tóxicos celulares do tanino catéquico sobre larvas de *A. aegypti* foram: elevada vacuolização e ausência dos limites citoplasmáticos, formação vesicular apical com liberação de conteúdo citoplasmático, aumento do espaço intercelular e desprendimento de células da membrana basal.

DESCRITORES: *Aedes aegypti*. Tanino catéquico. *Magonia pubescens*. Controle.

-
- 1 Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos, de Bioatividade de Plantas do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil.
 - 2 Instituto de Ciências Biológicas da UFG.
 - 3 Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

Endereço para correspondência: Dr. Ionizete Garcia da Silva, Departamento Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia, IPTSP/UFG, Caixa Postal 131, 74001-970, Goiânia, GO, Brasil. E-mail: ionizete@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em: 24/8/2010. Revisto em: 20/10/2010. Aceito em: 26/10/2010.

INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti*, principal vetor do dengue e da febre amarela urbana no Brasil, tem sido alvo de constantes campanhas de saúde pública no país (7, 42, 43). De origem africana, chegou ao Brasil na época da colonização pelos navios de tráfico negreiro. Por se tratar de um inseto hematófago de hábitos marcadamente antropofílicos e urbanos, seus criadouros preferenciais são os mais variados depósitos artificiais de água limpa e também poluída (12, 14, 37). Seus ovos podem permanecer viáveis por até 490 dias no meio ambiente, bastando apenas o contato com a água para que ocorra a eclosão (35).

A febre amarela, causada por um vírus do gênero *Flavivirus* é endêmica em 34 países africanos, totalizando 90% dos casos de febre amarela do mundo. Na América do Sul sua ocorrência tem sido registrada na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Peru e Venezuela. No Brasil, as áreas de risco incluem as regiões Norte, Centro-Oeste, o estado do Maranhão e parte dos estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (23, 28, 44).

Os primeiros relatos de casos de febre amarela no Brasil foram descritos em Recife-PE e, posteriormente, em Salvador-BA, no século XVII. Após um período silencioso de 150 anos, a febre amarela reapareceu no Rio de Janeiro-RJ, causando 4.160 óbitos. Somente em 1932 o ciclo silvestre foi identificado e, desde então, surtos localizados acontecem nas áreas classificadas como áreas de risco. Em Goiás, ocorreram dois surtos de febre amarela urbana, um em 1972 com 44 óbitos e o outro em 2000 com 53 óbitos (23).

O dengue é causado por um vírus do mesmo gênero da febre amarela, *Flavivirus*, com quatro sorotipos, antigenicamente distintos: DEN-1, 2, 3 e 4 (13, 18, 32). Até o momento, circulam no Brasil os três primeiros sorotipos distribuídos pelas 27 unidades da federação, em 3.794 municípios (7, 34).

Não existe vacina pronta para prevenção de dengue, assim o combate ao *A. aegypti* continua sendo a única forma de se impedir o avanço da doença por meio do controle físico, químico e biológico. O controle químico é basicamente realizado pelo uso de organofosforados e piretroides (25). Porém, o uso destes compostos por várias décadas tem provocado o aparecimento da resistência dos insetos (6, 8, 10, 21).

Medidas biológicas com os peixes larvófagos são bastante utilizadas em ambientes restritos como bebedouros de grandes animais, fossos de elevador em obras, espelhos d'água e fontes ornamentais. A bactéria *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) também tem sido usada no controle de larvas de *A. aegypti* em regiões onde foi detectada resistência (27).

Na busca por inseticidas para o controle do *A. aegypti*, aqueles de origem botânica são tidos como alternativa de interesse por serem de baixo impacto ambiental, biodegradáveis e terem compostos com vários princípios ativos que retardam a mudança de suscetibilidade e resistência (9, 15, 17, 20, 22, 26, 31, 36, 40).

A *Magonia pubescens*, uma árvore da família Sapindaceae que ocorre em áreas de Cerrado, é utilizada na construção de cerca e produção de carvão. É de conhecimento popular que as sementes são usadas para fabricação de sabão com propriedades medicinais para o tratamento de dermatites, seborreia e nas infestações de piolho. A fração que apresentou um maior potencial larvicida dessa planta foi a MP₉ (C₄₅H₁₆O₁₈), obtida por técnicas cromatográficas e espectrométricas e identificada como um tanino catéquico. Este trabalho teve como objetivo elucidar o mecanismo de ação deste tanino sobre larvas de *A. aegypti*.

MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de *A. aegypti* foram obtidas da criação do Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG). A criação do mosquito se deu numa câmara biológica, climatizada a 28±1°C, umidade relativa de 80±5% e foto período de 12 horas com metodologia já definida. Utilizaram-se larvas em início de terceiro estágio, imediatamente após a muda, por serem mais resistentes (38).

Estudos realizados pelo Laboratório de Bioatividade de Plantas do IPTSP/UFG determinaram previamente a atividade e a composição química das frações derivadas da casca de caule de *M. pubescens* contra larvas de terceiro estágio de *A. aegypti*. A fração rica em tanino catéquico foi a que mostrou maior atividade larvicida contra *A. aegypti*, sendo as CL₅₀ e CL₉₀ estabelecidas em 3,1 e 36,6 ppm, respectivamente (39).

O tanino catéquico é solúvel em água, não sendo necessária a utilização de diluentes químicos, o que descarta qualquer interferência nas análises morfo-histológicas. Foram utilizados seis copos de poliestireno, com 25 mL da solução de tanino a 36,6 ppm e, em seguida, colocadas 25 larvas de terceiro estágio em cada copo. Os experimentos foram realizados em duplicata.

Para as larvas controle, utilizou-se apenas água destilada. Todos os grupos foram alimentados com ração para gato triturada, segundo a metodologia já estabelecida (38).

As larvas foram deixadas na solução teste por tempos variados, sendo coletadas em intervalos de três horas, num período de 24 horas, para verificação das alterações. Após a coleta, as larvas foram observadas em estereomicroscópio Dimex MZS 250. As larvas mortas foram descartadas e as que apresentavam estado letárgico foram retiradas das soluções e imediatamente colocadas inteiras em fixador.

As preparações em historesina foram realizadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia (DMORF) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFG.

A fixação foi realizada em paraformaldeído a 4%, em tampão cacodilato de sódio 0.1 M pH 7.2, em temperatura ambiente por um período de duas horas

(2). Depois de fixadas, as larvas foram lavadas no mesmo tampão e submetidas à desidratação por meio de soluções com concentrações crescentes de etanol por um período de dez minutos em cada solução. Após a desidratação, as larvas foram colocadas em resina de embebição – *Leica Historesin Embedding Kit*, por 12 horas, em temperatura ambiente, incluídas em resina segundo especificações do fabricante, utilizando-se, para isso, moldes de silicone.

Após a polimerização, os blocos foram seccionados com navalha de vidro, em micrótomo Leitz 1512, adaptado para cortes semifinos com espessura de 3 µm. Em seguida, os cortes foram corados em hematoxilina e eosina segundo método já estabelecido (16, 29).

As lâminas foram analisadas e o registro fotográfico foi feito em fotomicroscópio Zeiss Axioskop MC80 adaptado com câmera digital.

RESULTADOS

As larvas controle de *A. aegypti* apresentaram aspecto morfológico externo alongado e vermiforme. As que foram tratadas com o tanino catéquico isolado da *M. pubescens* apresentaram aspecto morfológico externo semelhante ao das larvas controle, porém, após seis horas de tratamento, foi observado que elas expulsavam do tubo digestório, para o meio externo, a matriz peritrófica contendo todo o alimento (figuras 1A e 1B).



SR = Sifão respiratório, LA = Lobo anal, C = Cerdas, PA = Papilas anais.

Figura 1. Aspecto morfológico das larvas de *Aedes aegypti*. A. Larva controle. B. Larva tratada com tanino catéquico da *M. pubescens*, demonstrando a extrusão da matriz peritrófica (seta).

As figuras 2A, 2B e 2C mostram a morfologia das células do tubo digestório das larvas de *A. aegypti* do grupo controle. O mesêntero das larvas de Culicidae é formado por três regiões distintas, denominadas de anterior, mediana e posterior.

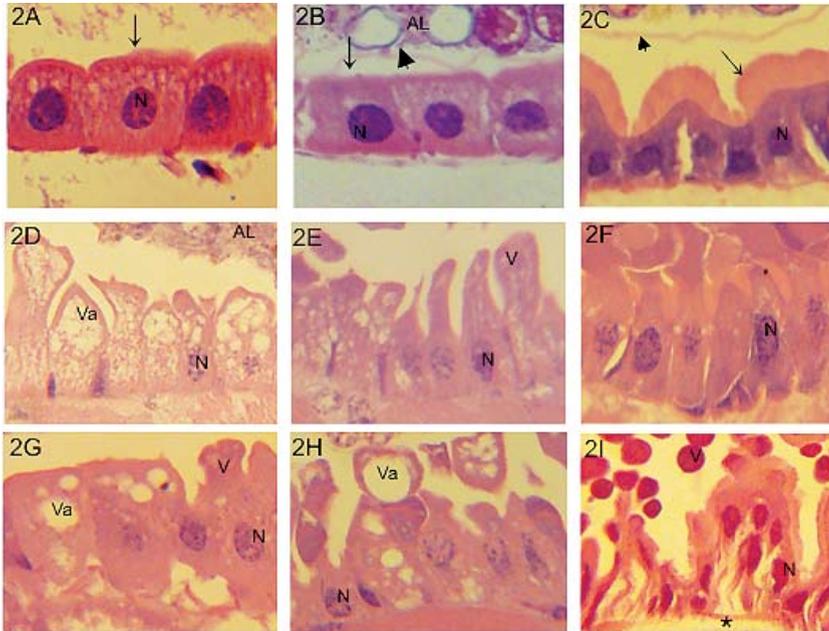
A região anterior (Figura 2A) caracterizou-se por apresentar células epiteliais com citoplasma heterogêneo, acidofilia moderada, núcleo esférico e central. Na superfície apical destas células, encontrou-se um fino bordo em escova. A região mediana (Figura 2B) apresentou células epiteliais cúbicas com núcleo esférico basal e um bordo em escova fino e bem corado. Nesta região, observou-se uma fina membrana refringente à luz que envolve todo o conteúdo alimentar, denominada matriz peritrófica.

A região posterior (Figura 2C) apresentou células cilíndricas com intensa basofilia e núcleo esférico basal. A superfície apical mostrou-se com espesso bordo em escova, levemente acidófilo indicando a grande quantidade de microvilosidades existentes nesta região. Em todas as três regiões do mesêntero, as células epiteliais apresentaram-se apoiadas na membrana basal.

O epitélio intestinal das larvas de *A. aegypti* tratadas com o tanino catéquico apresentou várias alterações, as mais significativas ocorreram nos tempos de 6, 12, 18 e 24 horas.

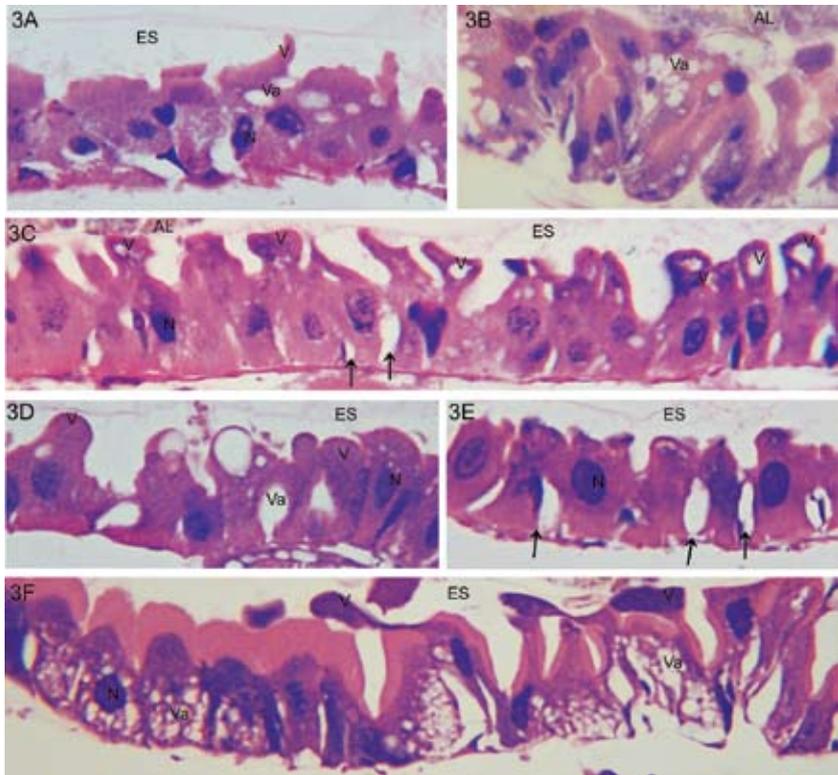
Após seis horas de tratamento com o tanino catéquico, as células da região anterior do mesêntero destas larvas apresentaram um elevado grau de destruição (Figura 2D). O citoplasma mostrou-se vacuolizado, adquirindo um aspecto reticulado e o núcleo apresentou cromatina descondensada e ausência de nucléolo. Ao contrário da região anterior em que as alterações foram evidentes, a região mediana do mesêntero destas larvas apresentou células com certo aspecto de conservação (Figura 2E). O citoplasma mostrou-se com menor vacuolização e aspecto esponjoso semelhante ao controle. Foi também possível notar que as células das regiões anterior e mediana perderam seu aspecto cúbico e apresentaram uma forma alongada, sugerindo a formação de vesículas na porção apical celular (figuras 2D e 2E). As células da região posterior do mesêntero destas larvas mostraram características de normalidade, apresentando maior basofilia celular, forma cilíndrica, citoplasma esponjoso e intensa atividade secretora bem característica desta região (Figura 2F).

Com 12 horas de exposição à solução de tanino catéquico, as alterações celulares se estenderam por todas as três regiões do mesêntero. A região anterior mostrou grandes vacúolos citoplasmáticos e formação de vesículas na região apical das células (Figura 2G). As células da região mediana também apresentaram grande quantidade de vacúolos no citoplasma, além da ausência dos limites celulares (Figura 2H). A região posterior apresentou células com intensa atividade secretora percebida pela presença de várias vesículas. Notou-se que algumas células desprenderam-se da membrana basal (Figura 2I).



Núcleo (N), alimento (AL), vacúolos (Va), vesículas (V).

Figuras 2. A, B e C: Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* do grupo controle coradas com HE. 2A. Região anterior. 400X. 2B. Região mediana 400X. 2C. Região posterior. 400X. Notar a presença do bordo em escova (seta) e da matriz peritrófica (cabeça de seta). D, E e F. Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas por seis horas ao tanino catéquico isolado da *M. pubescens*. 2D. Região anterior com presença de grandes vacúolos no citoplasma das células. 400X. 2E. Região mediana apresentando células com formação de vesículas apicais no citoplasma. 400X. 2F. Região posterior evidenciando intensa atividade secretora. 400X. G, H e I. Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas por 12 horas ao tanino catéquico. 2G. Região anterior com formação vesicular na porção apical do citoplasma e presença de grandes vacúolos. 400X. 2H. Região mediana com o citoplasma altamente vacuolizado. 2I. Região posterior com grande quantidade de vesículas e células se desprendendo da membrana basal (*). 400X. Bordo em escova (seta), Matriz peritrófica (cabeça de seta).



Núcleo (N), alimento (AL), vacúolos (Va), vesículas (V), espaço subperitífico (ES).

Figuras 3. A, B e C: Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas por 18 horas ao tanino catéuico da *M. pubescens*. 3A. Região anterior com presença de vesículas na porção apical das células e grandes vacúolos citoplasmáticos. 400X. 3B. Região posterior com presença de vacúolos apicais citoplasmáticos. 400X. 3C. Região mediana revelando aumento do espaço intercelular (setas). Ocorre um acúmulo de substância no espaço subperitífico que também é notado na região anterior. 400X. D, E e F. Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas por 24 horas ao tanino catéuico. 3D. Região anterior mostrando células com citoplasma vacuolizado. 400X. 3E. Região mediana com maior espaço intercelular (setas). 400X. 3F. Região posterior mostrando células com citoplasma altamente vacuolizado. 400X.

As figuras 3A, B e C mostram as regiões anterior, mediana e posterior do mesêntero de larvas mantidas por 18 horas na solução de tanino catéuico.

Nestas condições, foi possível observar que a destruição celular, antes mais intensa nas regiões anterior e mediana, foi evidenciada também na região posterior do mesêntero. As células da região anterior (Figura 3A) caracterizaram-se pelo acúmulo de material na região apical, limite citoplasmático irregular e diversos vacúolos no citoplasma. Na região mediana (Figura 3C), foram identificadas células vacuolizadas e um processo avançado de lise, uma vez que foi marcante a presença de formações vesiculares apicais em quase todas as células desta região. Esta vacuolização também foi observada na região posterior do mesêntero (Figura 3B). As figuras 3A e 3C demonstraram aumento do espaço subperitrófico no qual se localiza uma substância levemente corada. Foi possível observar nestas larvas a ausência do alimento na luz intestinal e a presença da matriz peritrófica fracamente corada.

Com 24 horas de exposição ao tanino catéuico, as três regiões do mesêntero se mostraram fortemente afetadas. As células da região anterior (Figura 3D) apresentaram grandes vacúolos citoplasmáticos e vesículas apicais. A região mediana (Figura 3E) apresentou células vacuolizadas, com formas irregulares e aumento do espaço intercelular. Já na região posterior (Figura 3F), as células apresentaram-se muito vacuolizadas e em intensa atividade secretora.

DISCUSSÃO

Embora a morfologia externa das larvas do grupo teste tenham apresentado características semelhantes às do grupo controle, a extrusão da matriz peritrófica após seis horas de tratamento mostra o mecanismo de defesa da larva de *A. aegypti* que elimina todo o alimento contaminado com a substância larvicida (figuras 1A e 1B). Isso também foi notado em estudos com larvas de *A. aegypti* submetidas a extratos brutos da mesma planta, nos quais os autores relataram a extrusão da matriz peritrófica pelas larvas, como uma forma de eliminar as substâncias tóxicas do seu interior e assim evitar maiores danos aos seus tecidos (2, 5, 41).

A matriz peritrófica é extracelular e secretada pelo epitélio do mesêntero em alguns artrópodes. Esta membrana age como uma barreira protetora contra várias substâncias químicas, agentes microbianos e até mesmo contra agressões físicas causadas pelos alimentos ingeridos (2, 3, 4, 19, 24, 41). O mesêntero é o principal alvo de substâncias tóxicas, químicas e biológicas e a eliminação da matriz peritrófica, juntamente com o alimento ingerido, parece ser a primeira forma de defesa das larvas para a eliminação do que é tóxico. No caso do tanino catéuico ingerido pelas larvas de *A. aegypti* junto com o alimento, a extrusão da matriz peritrófica não impediu que ocorresse a destruição do epitélio intestinal e a morte das larvas. A extrusão da matriz serviu para comprovar a ação letal da substância, o que está de acordo com outros autores (2, 19).

Nas análises microscópicas, as larvas controle apresentaram o mesêntero com três regiões distintas: anterior, mediana e posterior conforme descrito na literatura (1, 2, 3, 41). O epitélio destas três regiões apresentou-se formado por

células cúbicas, citoplasma esponjoso e núcleos esféricos. As células das regiões anterior e mediana (figuras 2A e 2B) mostraram-se mais fracamente coradas; as da região posterior (Figura 2C), mais basofílicas. Na superfície apical de todas as células do mesêntero, observou-se a presença de uma camada delgada e refringente à luz, formando um fino bordo em escova. Esta camada mostrou-se muito delgada na região anterior, levemente mais aparente na região mediana e bastante espessa na região posterior, evidenciando a grande quantidade de microvilosidades nesta porção do mesêntero (Figura 2C). Também foi observada, na região posterior, a presença de células em intensa atividade secretora, caracterizada pela liberação do conteúdo citoplasmático em forma de vesículas. Estudos demonstraram que essas vesículas são formadas por glicosaminoglicanos e que as células teriam a função de produzir enzimas e proteínas responsáveis pelo processo de digestão e absorção dos alimentos (2). Em todo o tubo digestório das larvas controle, observou-se a presença de uma matriz peritrófica envolvendo o conteúdo alimentar.

As alterações morfo-histológicas causadas pelo tanino catéquico isolado de *M. pubescens* foram mais evidenciadas na região anterior do mesêntero das larvas de *A. aegypti* tratadas, talvez por ter sido essa região a primeira a ser atingida. Essas alterações avançaram para as outras regiões do mesêntero de forma progressiva. Em outras investigações foram encontrados resultados semelhantes ao anterior com o extrato bruto etanólico (2, 30). A ação de extratos botânicos tóxicos no mesêntero de larvas de Diptera ocorre nas três regiões em função do tipo de substância. Estudos de análise das alterações morfo-histológicas em larvas de *A. aegypti* com o óleo-resina de *Copaifera reticulata* evidenciaram que as alterações celulares ocorreram em todo o mesêntero, sendo mais destacadas na região mediana (1). Em larvas de Diptera submetidas à toxina Cry11Bb de *B. thuringiensis* sub. *medellin* (33), o mesêntero posterior e os cecos gástricos são os principais sítios de localização dessa toxina.

Os principais efeitos tóxicos causados pelo tanino catéquico nas células do mesêntero de larvas de terceiro estágio de *A. aegypti* foram: elevada vacuolização citoplasmática, ausência dos limites citoplasmáticos, formação vesicular apical com liberação de conteúdo citoplasmático das células, aumento do espaço intercelular e células desprendidas da membrana basal. Estes resultados são semelhantes aos processos histopatológicos relatados em insetos, em resposta a uma variedade de substâncias tóxicas biológicas (1, 2, 3, 11, 19, 30).

Estudos histopatológicos em que se usou o ácido tânico sobre larvas de Diptera demonstraram que as alterações atingiram primeiramente a região anterior do mesêntero, progredindo para as regiões mediana e posterior (30). As principais alterações relatadas foram a presença de vacuolização, hipertrofia celular, deslocamento da membrana basal e degeneração da porção apical das células. Estes resultados são semelhantes aos relatados neste trabalho.

A toxicidade de folhas frescas finamente trituradas de *Alnus glutinosa*, *Populus nigra* e *Quercus robur* foi demonstrada para larvas de Diptera, inclusive *A. aegypti*, no qual o mesêntero também se mostrou como o principal órgão atingido,

seguido pelos cecos gástricos e túbulos de Malpighi. As principais alterações observadas pelos autores foram: inchaço celular apical, vacuolização citoplasmática, ruptura da membrana basal e liberação do conteúdo citoplasmático para o lúmen intestinal. Em outro estudo (1), foi observado que estas mesmas alterações, somadas às modificações dos nervos periféricos, das microvilosidades, núcleo e nucléolo ocorreram em larvas de *A. aegypti* expostas ao óleo-resina de *C. reticulata*. Essas observações são compatíveis com as apresentadas neste trabalho.

Alterações em larvas de *A. aegypti*, *Anopheles albimanus* e *Culex quinquefasciatus* expostas à toxina Cry11Bd de *B. thurriensis* sub. *medellin* ocorreram principalmente no mesêntero posterior, destacando esta região como o principal ponto de ação desta toxina (33). As alterações mais comumente encontradas foram: vacuolização citoplasmática, hipertrofia celular, destruição do bordo em escova e degeneração celular. Essas mesmas alterações deletérias ocorreram em todo o mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas ao extrato da planta *Sapindus saponaria* (3). Tais resultados, semelhantes aos relatados neste trabalho, evidenciam o processo de degeneração celular e aceleração do processo de lise das células epiteliais.

Larvas de *A. aegypti*, submetidas ao extrato bruto etanólico de *M. pubescens*, apresentaram alterações, primariamente, na região anterior do mesêntero, as quais tiveram continuidade nas regiões mediana e posterior (2). Este fato também pôde ser observado no presente trabalho. As principais alterações histológicas observadas foram: destruição celular, elevada vacuolização citoplasmática, aumento do espaço subperitrófico com acúmulo de material no seu interior, aumento no número de camadas do epitélio, aumento da espessura da matriz peritrófica e hipertrofia das células (2). A destruição celular, a elevada vacuolização do citoplasma, o aumento do espaço subperitrófico e a hipertrofia celular são compatíveis com os resultados deste trabalho e evidenciam a aceleração do processo de lise celular provocado pelo tanino catéquico. Neste trabalho, a matriz peritrófica das larvas tratadas apresentou-se menos espessa do que a das larvas controle, contrapondo-se aos resultados apresentados por outros pesquisadores (2). Isso se deve ao fato de que a extrusão desta membrana foi um fato marcante neste trabalho. A maioria das larvas tratadas e coletadas para estudo apresentou, no exame físico, a extrusão da matriz peritrófica e, no exame histológico, ausência do alimento no tubo digestório e aumento do espaço subperitrófico. Concluiu-se, então, que as características da matriz peritrófica apresentadas neste trabalho se devem ao fato de ser uma membrana recém-formada, portanto mais fina e clara. Não foi observado, no presente trabalho, aumento no número de camadas epiteliais em nenhuma região.

A presença de vesículas na região apical das células do mesêntero das larvas tratadas com tanino catéquico foi uma alteração presente em todos os tempos de exposição analisados e também na maioria dos trabalhos aqui referenciados (1, 2, 3, 19, 30, 33).

Segundo Snodgrass (41), o processo de degeneração das células epiteliais do mesêntero dos insetos em geral ocorre pelo acúmulo de material granular na porção apical e pela liberação desse material na luz intestinal do inseto. Desse modo, a presença destas vesículas indica o potencial larvicida do tanino catéquico em razão da estimulação da lise celular.

Diante das alterações provocadas pelo tanino catéquico nas larvas de *A. aegypti*, este produto se mostrou potencialmente tóxico e capaz de atuar como larvicida contra o *A. aegypti*.

ABSTRACT

Changes in morphohistologic larvae of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) caused by tannins catechin isolated from the plant *Magonia pubescens* (Sapindaceae)

The control of *Aedes aegypti* is nowadays one of the major public health problems in Brazil, being the main vector of dengue and urban yellow fever. Of African origin, this mosquito is well adapted to Brazilian climatic conditions and is now distributed in all states. The usual methods to combat and control the mosquito have been highly questioned. The chemical insecticides currently used have led to the emergence of resistant populations of mosquitoes and the consequent increase of its density, causing significant epidemics of dengue. Insecticides of botanical origin have shown to be alternative candidates to their control. This work presents for the first time, morphohistologic changes caused by the larvicidal activity of tannin catechin extracted from *Magonia pubescens* on larvae of *A. aegypti*, showing the potential of this natural larvicidal compound. Larvae of the 3rd stage were submitted to a water solution of tannin catechins, at 37ppm, where they remained for up to 24 h. Larvae that reached lethargic state were collected and fixed in paraformaldehyde at 4%, in sodium cacodylate buffer at 0.1 M and pH 7.2, included in resin, mounted on slides, stained with hematoxylin-eosin and analyzed by light microscope. The main cell toxic effects of tannin catechin on larvae of *A. aegypti* were the high vacuolation and absence of cytoplasmic limits, vesicular apical formation with release of cytoplasmic content, increase in intercellular spaces and detachment of cells from the basal membrane.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*. Tannin catechin. *Magonia pubescens*. Control.

REFERÊNCIAS

1. Abed RA, Cavasin GM, Silva HHG, Silva IG. Alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pela atividade larvicida do óleo-resina da planta medicinal *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae). *Rev Patol Trop* 36: 87-95, 2007.

2. Arruda W, Oliveira GMC, Silva IG. Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 17-25, 2003.
3. Barreto CF, Cavasin GM, Silva HHG, Silva IG. Estudos das alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). *Rev Patol Trop* 35: 37-57, 2006.
4. Beerntsen BT, James AA, Christensen BM. Genetics of mosquito vector competence. *Microbiol Mol Biol Rev* 64: 115-137, 2000.
5. Borges RA, Cavasin GM, Silva IG, Arruda W, Oliveira ESF, Silva HHG, Martins F. Mortalidade e alterações morfológicas provocadas pela ação inibidora do diflubenzuron na ecdise de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev Patol Trop* 33: 91-104, 2004.
6. Braga IA, Lima JBP, Soares SS, Valle D. *Aedes aegypti*: Resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 199-203, 2004.
7. Câmara FP, Theophilo RLG, Santos GT, Pereira SRF, Câmara DCP, Matos RRC. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 192-196, 2007.
8. Carvalho MSL, Caldas ED, Degallier N, Vilarinhos PTR, Souza LCKR, Yoshizawa MAC, Knox MB, Oliveira C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Rev Saúde Pública* 38: 623-629, 2004.
9. Cavalcanti ESB, Morais SM, Lima MAA, Santana EWP. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 541-544, 2004.
10. Cunha MP, Lima JBP, Brogdon WG, Mova GE, Valle D. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 441-444, 2005.
11. Delphine R, Pautou MP, Meyran JC. Histopathological effects of tannic acid on the midgut epithelium of some aquatic Diptera larvae. *J Invertebr Pathol* 73: 173-181, 1999.
12. Donalísio MR, Glasser CM. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. *Rev Bras Epidemiol* 5: 259-272, 2002.
13. Figueiredo LTM. Febres hemorrágicas por vírus no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 203-210, 2006.
14. Forattini OP, Brito M. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. *Rev Saúde Pública* 37: 676-677, 2003.
15. Furtado RF, Lima MGA, Neto MA, Bezerra JNS, Silva MG. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotrop Entomol* 34: 843-847, 2005.
16. Gabe M. *Histological Techniques*. Paris: Masson, 1976.
17. Geris R, Silva IG, Silva HHG, Barison A, Rodrigues-Filho E, Ferreira AG. Diterpenoids from *Copaifera reticulata* ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev Inst Med trop São Paulo* 50: 25-28, 2008.
18. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 11: 480-496, 1998.
19. Gusmão DS, Páscoa V, Mathias L, Vieira IJC, Braz-Filho R, Lemos FJA. *Derris* (Lonchocarpus) *urucu* (Leguminosae) Extract Modifies the Peritrophic Matrix Structure of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 371-375, 2002.
20. Lima MGA, Maia ICC, Souza BD, Morais SM, Freitas SM. Effect of stalk and leaf extracts from euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. *Rev Inst Med trop São Paulo* 48: 211-214, 2006.
21. Luna JED, Martins MF, Anjos AF, Kuwabara EF, Navarro-Silva MA. Suscetibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. *Rev Saúde Pública* 38: 846-853, 2004.
22. Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL, Cavalcanti ELA. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. *Quím Nova* 28: 892-896, 2005.
23. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Guia de Vigilância Epidemiológica*. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 6. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2005.

24. Páscoa V, Oliveira MDP, Silva JR, Alvarenga PH, Jacobs-Lorena M, Lemos FJA. *Aedes aegypti* peritrophic matrix and its interaction with heme during blood digestion. *Insect Biochem. Mol Biol* 32: 517-523, 2002.
25. Penna MLF. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. *Cad Saúde Pública* 19: 305-309, 2003.
26. Pohlit AM, Quignard ELJ, Nunomura SM, Tadei WP, Hidalgo AF, Pinto ACS, Santos EVM, Morais SKR, Saraiva RCG, Ming LC, Alecrim AM, Ferraz AB, Pedroso ACS, Diniz EV, Finney EK, Gomes EO, Dias HB, Souza KS, Oliveira LCP, Castro LD, Queiroz MMA, Henrique MC, Santos M, Lacerda Júnior OS, Pinto OS, Silva SG, Graça YR. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae. *Acta Amaz* 34: 97-105, 2004.
27. Polanczyk RA, Garcia MO, Alves SB. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. *Rev Saúde Pública* 37: 813-816, 2003.
28. Prata A. Yellow Fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 183-187, 2000.
29. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sabin LH. *Laboratory methods in histotechnology*. Washington-DC: American Registry of Pathology, 1992.
30. Rey D, Pautou MP, Meyran JC. Histopathological effects of tannic acid on the midgut epithelium of some aquatic Diptera larvae. *J Invertebr Pathol* 73: 173-181, 1999.
31. Roel AR. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. *Interações (Campo Grande)* 1: 43-50, 2001.
32. Rothman AL. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *J Clin Invest* 113: 946-951, 2004.
33. Ruiz LM, Segura C, Trujillo J, Orduz S. *In vivo* binding of the Cry11Bb toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *medellin* to the midgut of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 73-79, 2004.
34. Serufo JC, Nobre V, Rayes A, Marcial TM, Lambertucci JR. Dengue: uma nova abordagem. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 465-476, 2000.
35. Silva HHG, Silva IG. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 349-355, 1999.
36. Silva HHG, Santos RMG, Rodrigues Filho E, Rocha C, Silva IG. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 264-267, 2007.
37. Silva HHG, Silva IG, Santos RMG, Rodrigues Filho E, Elias CN. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 396-399, 2004.
38. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev Patol Trop* 27: 53-63, 1998.
39. Silva HHG, Silva IG, Oliveira CLNS, Elias CN. Adaptação do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em criadouros artificiais com água poluída. *Entomol Vet* 6: 383-391, 1999.
40. Simas NK, Lima EC, Kuster RM, Lage CLS, Filho AMO. Potential use of *Piper nigrum* ethanol extract against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* larvae. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 405-407, 2007.
41. Snodgrass RE. *Principles of insects morphology*. Cornell University Press. The alimentary canal. 1993.
42. Tauil PL. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad Saúde Pública* 18: 867-871, 2002.
43. Teixeira MG, Costa MCN, Barret ML, Mota E. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? *Cad Saúde Pública* 21: 1307-1315, 2005.
44. Vasconcelos PFC. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 275-293, 2003.