

**ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO BRUTO
ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DE *Magonia
pubescens* St.Hil. SOBRE *Aedes albopictus* (Skuse, 1894)
(DIPTERA, CULICIDAE)**

Viviany Pires Guimarães,¹ Ionizete Garcia da Silva,² Heloísa Helena Garcia da Silva² e Cleonice Rocha³

RESUMO

Realizaram-se ensaios biológicos para verificar a atividade larvicida do extrato bruto etanólico (e.b.e) da casca do caule da *Magonia pubescens* sobre o *Aedes albopictus*, com a finalidade de encontrar novas alternativas no combate a esse mosquito. Após as coletas, as cascas foram dessecadas em estufa de ar forçado a 40°C, moídas, percoladas a frio em etanol por 72 horas, filtradas, concentradas em evaporador rotativo e dessecadas em uma capela à temperatura ambiente. Em seguida, o e.b.e obtido foi dissolvido em água destilada e testado para todos os estádios larvais de *Ae. albopictus*. Cada experimento foi realizado em copos descartáveis de 300 mL de capacidade, com 200 mL de solução e 20 larvas em cada um. As observações de mortalidade foram feitas 48 horas após o início do teste. Os experimentos foram realizados em câmara biológica climatizada a 28 ± 2°C, umidade relativa de 80 ± 5% e fotofase de 12 horas. A CL₅₀ encontrada para larvas de 1°, 2°, 3° e 4° estádios foi de 35; 42; 130 e 127 mg de e.b.e/100 mL de água destilada, respectivamente. A CL₁₀₀, para os mesmos estádios, foi de 70; 90; 190 e 180 mg de e.b.e/100 mL de água destilada, respectivamente. O e.b.e da *M. pubescens* demonstrou atividade larvicida para todos os estádios de *Ae. albopictus*.

UNITERMOS: *Magonia pubescens*. *Aedes albopictus*. Inseticida botânico. Controle.

O *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) foi descrito originalmente na Índia, e sua dispersão tem sido notificada em quase todos os países asiáticos de áreas temperadas e tropicais. A sua presença já foi assinalada na África (Savage et al., 1992) e na Europa (Itália) por Romi et al. (1999). Introduzido nas Américas, foi notificado em 1985 nos Estados Unidos e, no ano seguinte,

- 1 Aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG).
- 2 Professor do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do IPTSP-UFG. Laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico.
- 3 Departamento de Matemática e Física - Universidade Católica de Goiás.

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo, eq. com a 1ª Avenida, Setor Universitário. Caixa Postal 131, CEP 74605-050, Goiânia - GO. E-mail: ionizete@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em 25/4/2001. Revisto em 7/11/2001. Aceito em 19/11/2001.

no Brasil. Aqui se dispersou para os ambientes rural, periurbano e urbano, em quase todas as regiões brasileiras, num total de 14 estados e 1.465 municípios (Ministério da Saúde, 1999). Esse mosquito apresenta hábitos acentuadamente antropofílicos e zoofilia discreta; sua atividade hematofágica é diurna e pode ocorrer durante todo o ano (Marques & Gomes, 1997).

Foi demonstrado que o *Ae. albopictus* cria-se em recipientes naturais e artificiais (Forattini et al., 1997), competindo, assim, no ambiente urbano, com o *Ae. aegypti*. Quando ambos coexistem em uma mesma localidade, a densidade de *Ae. aegypti* tende a diminuir (O'Meara et al., 1995). *Ae. albopictus* prefere depositar seus ovos em ocos de árvores, em bambus cortados, em axilas de plantas e bromélias (Gomes et al., 1992; Forattini et al., 1998), apesar de se adaptar facilmente ao ambiente antrópico.

No mundo, mais de duas mil espécies de plantas foram catalogadas com substâncias que apresentaram propriedades inseticidas. O uso de extratos já existia antes do advento dos inseticidas sintéticos. Basicamente, têm sido utilizados extratos vegetais e infusões desde 1828 na Pérsia e na Iugoslávia (Baladrin et al., 1985). Contudo, a partir de 1939, o piretro passou a ser utilizado e comercializado em muitos países. Na década de 1950, com o advento da síntese de uma molécula análoga ao piretro, inseticidas denominados piretróides praticamente substituíram os produtos naturais. Em países em desenvolvimento, o uso de extratos de plantas como inseticidas é uma prática popular bastante antiga e que continua sendo utilizada, como o *Chrysanthemum cineraraefolium*, a *Nicotina tabacum* e *Nicotina rustica* (Baladrin et al., 1985; Vieira & Andrei, 1997).

Usando plantas do Cerrado brasileiro, Silva et al. (1996) demonstraram que a *Magonia pubescens* (Sapindaceae) apresentava atividade larvicida para *Ae. aegypti*. Esses resultados motivaram estudos para outras espécies de mosquitos, dentre essas o *Ae. albopictus*, espécie secundária na transmissão de dengue.

Como ainda não existe uma vacina tetravalente pronta para uso contra o dengue, a prevenção restringe-se às ações de combate ao vetor. Essas ações têm mostrado vários problemas, dentre eles o aparecimento de resistência do mosquito aos inseticidas (Wesson, 1990), motivando estudos de novas alternativas. Assim, este trabalho teve a finalidade de estudar substâncias de plantas ativas para insetos, procurando alternativas naturais e menos tóxicas para vertebrados para serem utilizadas nas ações antivetoriais.

Coletaram-se cascas do caule da *M. pubescens*, na região de Formosa – Goiás, que, em seguida, foram encaminhadas ao Laboratório de Bioatividade de Plantas do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG.

No laboratório, as cascas do caule da *M. pubescens* foram colocadas em estufa de fluxo de ar forçado a 40°C, para secagem. Posteriormente, foram moídas em moinho de facas até atingirem uma baixa granulometria, e

depois esse pó era percolado a frio. Essa percolação consistiu em colocar 800 g do pó num béquer, com capacidade para 2 litros, no qual se adicionava 1 litro de álcool etílico absoluto e misturava-se com o agitador mecânico até completa homogeneização. O béquer foi coberto com papel alumínio, e a solução permaneceu em repouso por 72 horas. Em seguida, filtrou-se o sobrenadante em funil de vidro com papel-filtro do tipo coador descartável. O mesmo foi submetido a mais quatro percolações.

O filtrado foi colocado em evaporador rotativo, e o extrato obtido foi transferido para um vidro âmbar com capacidade para 30 mL, para secagem à temperatura ambiente numa capela de exaustão. Após estar completamente seco o produto cristalizado foi acondicionado em dessecador.

Os ovos de *Ae. albopictus* foram coletados através de ovitrampas, no município de Bonfinópolis – Goiás, e transferidos para o laboratório, climatizado a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade de $80 \pm 5\%$ e fotofase de 12 horas (Silva et al., 1998), onde completaram o seu desenvolvimento.

Os ensaios biológicos foram realizados em câmara biológica climatizada semelhante à de criação. As soluções utilizadas foram preparadas pesando-se o extrato bruto etanólico (e.b.e) em balança analítica, com a precisão de 0,0001 g. O material pesado foi dissolvido em água destilada, com o auxílio de um agitador magnético, por cerca de 15 minutos. As soluções foram preparadas 48 horas antes da realização dos testes. Para cada bioensaio e estágio utilizaram-se 20 larvas. A mesma quantidade foi usada para o grupo controle colocado em 200 mL de água destilada.

As leituras de mortalidade foram feitas 48 horas após o início dos testes. As larvas foram consideradas mortas quando havia ausência total de movimentos, com escurecimento do corpo e cápsula cefálica. As concentrações letais foram interpoladas pela Análise de Probit através do programa Statistical Product and Service Solution (SPSS).

Com a resistência dos insetos vetores aos inseticidas químicos sintéticos que apresentam elevada toxicidade, surgem como alternativa menos tóxica os produtos naturais, de menor impacto ao homem e ao meio ambiente. Isso motivou o ressurgimento de estudos de plantas com propriedades inseticidas. Neste contexto, este trabalho apresenta pela primeira vez os resultados da atividade larvicida da *M. pubescens* sobre o *Ae. albopictus*.

Após o preparo da solução do e.b.e. da casca do caule de *M. pubescens*, essa apresentou caracteres próprios, coloração vermelho-tijolo, odor forte balsâmico, espuma e forte tensão superficial. Em função dessas duas últimas características, os bioensaios foram realizados após 24 horas da preparação, para evitar a morte das larvas pela interferência da espuma. Os resultados das concentrações letais CL_{50} foram de 35; 42; 130 e 127 mg de e.b.e./100 mL de água destilada, respectivamente, para os 1º, 2º, 3º e 4º estádios. A CL_{100} para os mesmos estádios foi de 70; 90; 190 e 180 mg de

e.b.e./100 mL de água destilada. Não houve mortalidade no grupo controle (Figura 1).

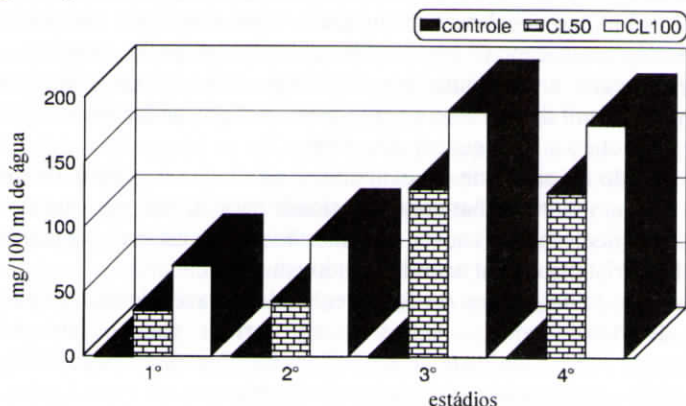


Figura 1. Mortalidade de larvas de *Aedes albopictus* pelo extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens*, após exposição de 48 horas

O e.b.e. da casca do caule de *M. pubescens* mostrou-se ativo para todos os estádios larvais de *Ae. albopictus*, indicando a possibilidade de seu uso para combater esse mosquito, considerado como vetor de dengue, em algumas regiões asiáticas. A CL_{50} encontrada para o 4º estágio de *Ae. albopictus* foi de 127 mg/100 mL de água, sendo próxima da CL_{50} encontrada por Silva et al.(1996), de 150 mg/100 mL de água, para *Ae. aegypti*. Esses resultados mostram que o mosquito tem tolerância ao e.b.e. da *M. pubescens* de forma semelhante ao *Ae. aegypti*.

Com relação à atividade inseticida da *M. pubescens*, em breve, ensaios biológicos serão realizados com a substância ativa, pois se encontram em andamento a purificação e a análise estrutural pelas técnicas de cromatografia e espectro de massa.

A *M. pubescens* não apresentou atividade repelente para adultos de *Ae. albopictus*. Contudo, essa atividade foi encontrada, na Índia, em extrato de flores da *Lantana camara* (Verbenaceae), que protegia os indivíduos repelindo *Ae. albopictus* em 94,5%, durante o período de 1,9 horas (Dua et al., 1996).

No Brasil, investigações sobre a atividade de plantas para insetos de interesse médico são poucas e referem-se às espécies *Ae. aegypti*, *Ae. fluviatilis* e *Culex quinquefasciatus*. Pizzarro et al. (1999) estudaram a atividade do extrato bruto desidratado e frações de saponinas, da *Agave sisalana* (sisal), planta com vasta distribuição no Nordeste. Esses autores encontraram atividade larvicida dessa planta sobre o *Ae. aegypti*,

determinando a CL_{50} em 322 e 204 ppm, respectivamente, para o extrato e a saponina. Outra espécie de planta do mesmo gênero, a *Agave americana*, apresentou atividade larvicida para o *Ae. fluviatilis*, na concentração de 100 ppm (Consoli et al., 1988). Por ter sido testada para outra espécie de mosquito e planta, torna-se difícil uma comparação, pois não se sabe se a espécie do mosquito utilizada era mais suscetível, se a planta tinha maior bioatividade, ou se ambos ocorriam simultaneamente.

Com o aparecimento de resistência dos mosquitos aos inseticidas químicos e com a preocupação de preservar o meio ambiente, ressurgem pesquisas com plantas, como alternativas menos tóxicas. Nos Estados Unidos, a planta *Tagetes minuta* tem sido estudada por vários pesquisadores, e a sua atividade foi demonstrada para vários insetos. Dentre esses, Green et al. (1991) mostraram atividade larvicida dessa planta, com CL_{50} de 10 ppm para 3º estágio de *Ae. aegypti*. Experiências com plantas filipinas mostraram atividade inseticida, sendo a CL_{50} de 16,3 g/100 mL (Monzon et al., 1994). A *Azadirachta indica*, conhecida popularmente como neem apresentou a CL_{50} variando de 4,8 a 21 g/100 mL, para o 3º estágio de *Ae. aegypti* (Monzon et al., 1994; Sidiqi et al., 2000). Todas as plantas supracitadas apresentaram concentrações letais menores do que o e.b.e. da *M. pubescens* porque os autores trabalharam com os princípios ativos isolados.

Em localidades onde coexistem as duas espécies, *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*, sugere-se, para planejamento das ações de controle simultâneo desses mosquitos, o uso das concentrações letais obtidas para a segunda espécie, que é menos suscetível ao e.b.e. da *M. pubescens*, cujas concentrações letais foram maiores. Estudos estão sendo realizados com frações e subfrações da casca do caule da *M. pubescens*, tanto para *Ae. albopictus* quanto para *Ae. aegypti*, na busca de concentrações letais menores, acompanhados de testes toxicológicos com animais, considerados padrões pelo Ministério da Saúde.

AGRADECIMENTO

Apoio Financeiro: CNPq - Funape, Opas/PEAa.

ABSTRACT

Larvicidal activity of ethanol crude extract of the peel of the stem of *Magonia pubescens* St. Hil. on the *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae)

Bioassays were carried out to verify larvicide activity of ethanol crude extract (e.c.e) of the peel of the stem of *Magonia pubescens* on the *Aedes albopictus*, aiming to find new alternatives to combat this mosquito. The peels, after being collected, were dried under 40°C air flow, grounded, percolated in cold temperature in ethanol for 72 hours, filtered, concentrated in rotating evaporator and desiccated in a chapel at natural temperature. The obtained

e.c.e was dissolved in different concentration of distilled water and tested for larvae from all instars of *Ae. albopictus*. A 300 mL plastic cup, with 200 mL of solution and 20 larvae were used for each experiment and the observations of mortality were made 48 hours after the beginning of each test. The experiments were carried out in a temperature controlled biological chamber at $28 \pm 2^\circ \text{C}$, $60 \pm 5\%$ of relative humidity and 12 hours of photoperiod. The LC_{50} found for 1st, 2nd, 3rd and 4th larval instars was: 35; 42; 130 and 127 mg of e.c.e./100 mL of distilled water respectively. The LC_{100} for the same instars was: 70; 90; 190 and 180 mg of e.c.e./100 mL of distilled water, respectively. The e.c.e of *M. pubescens* demonstrated larvicide activity against all instars of *Ae. albopictus*.

KEYWORDS: *Magonia pubescens*. *Aedes albopictus*. Botanic insecticide. Control.

REFERÊNCIAS

1. Baladrin MF, Klocke JA, Wurtele ES, Bollinger HWM. Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Material. *Science* 228:7, 1985.
2. Consoli RAGB, Mendes NM, Pereira JP, Santos BS, Lamounier MLA. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevida de larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83:87-93, 1988.
3. Dua VK, Gupta NC, Pandey AC, Sharma VP. Repellency of *Lantana camara* (Verbanaceae) flowers against *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc* 12: 406-408, 1996.
4. Forattini OP, Kakitani MAMS, Rezende L. Produtividade de criadouro de *Aedes albopictus* em ambiente urbano. *Rev Saúde Pública* 31: 545-555, 1997.
5. Forattini OP, Marques GRAM, Kakitani I, Brito M, Sallum MAM. Significado epidemiológico dos criadouros de *Aedes albopictus* em bromélias. *Rev Saúde Pública* 32: 186-188, 1998.
6. Gomes AC, Forattini OP, Kakitani I, Marques GRAM, Marques CCA, Marucci D, Brito M. Microhabitats de *Aedes albopictus* (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 26:108-118, 1992.
7. Green MM, Singer JM, Sutherland DJ, Hibben CB. Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypti*. *J Am Control Assoc* 7: 282-286, 1991.
8. Lorenzi H. *Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*. Ed. Plantarum, Piracicaba, 1992.
9. Marques GRAM, Gomes AC. Comportamento antropofílico de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) na região do Vale do Paraíba, Sudeste, do Brasil. *Rev Saúde Pública* 31:125-130, 1997.
10. Ministério da Saúde. *Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela*, Ed. FUNASA, Brasília, 1999. 60p.
11. Monzon RB, Alviór JP, Luczon LL, Morales AS, Mutuc FE. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linneus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 25:755-759, 1994 .
12. O'Meara GF, Evans Jr LF, Gettman AD, Cuda JP. Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) in Florida. *J Med Entomol* 32:554-562, 1995.
13. Pizzarro AP, Oliveira Filho AM, Parente JP, Melo MT, Santos CE, Lima PR. Utilization of the waste of sisal industry in control of mosquito larvae. *Rev Soc Bras Med Trop* 32:23-29, 1999.

14. Romi R, Di Luca M, Majori G. Current status of *Aedes albopictus* and *Aedes atropalpus* in Itáia. *J Med Mosq Control Assoc* 15:425-427, 1999.
15. Savage HM, Ezike VI, Nwwanko AC, Spiegel R, Miller BR. First record of breeding populations of *Aedes albopictus* in continental África: implications for arboviral transmission. *J Am Mosq Control Assoc* 68:101-103, 1992
16. Sidiqi BS, Afshan F, Ghiasuddin FS, Naqvi SN, Tariq RM. Two insecticidal tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. *Phytochemistry* 53:371-376, 2000.
17. Silva IG, Santos AH, Ferri PH, Alves FBN, Melo RQ, Peixoto L, Silva HHG, Elias CN, Isac E, Lira KS, Camargo MF. Ação larvicida de extrato bruto etanólico de *Magonia pubescens* St. Hil (tingui-do-Cerrado), sobre o *Aedes aegypti* (Lin.) em laboratório. *Rev Pat Trop* 25: 51-59, 1996.
18. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev Pat Trop* 27:51-63, 1998.
19. Vieira PC, Andrei CC. Inseticida de origem vegetal. In: Vieira PC, Ferreira JBT. *Produtos Naturais Ativos em Insetos: Isolamentos Indentificação, Purificação e Síntese*. São Carlos: EDDQ-UFSscar, p.135-159, 1997.
20. Wesson DM. Susceptibility to organophosphate insecticides in larval *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 6:258-264, 1990.

