

## DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL DA FORMULAÇÃO A BASE DO LÍQUIDO DA CASTANHA DO CAJU EM LARVAS DE *Aedes aegypti* LINNAEUS (DIPTERA: CULICIDAE)

Priscilla R. Motti<sup>1\*</sup>, Karla R. de A. Porto<sup>2</sup>, Alexandre A. Machado<sup>3</sup>, Antônia R. Roel<sup>4</sup>

1. Doutoranda no Programa de Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária, da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB)
2. Pesquisadora Doutora da Faculdade de Campo Grande - FCG
3. Professor Doutor colaborador da Universidade Católica Dom Bosco - UCDB
4. Docente e coordenadora Doutora do Programa de Pós Graduação de Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco - UCDB

**Resumo:** *Aedes aegypti* L. (Culicidae) é o principal vetor do vírus da dengue, Zika vírus e febre amarela, doenças consideradas um problema de saúde pública no Brasil. Compostos derivados de plantas têm sido apresentados como solução, mais seguros ambientalmente, no controle de vetores. O objetivo foi determinar as concentrações letais (CL 10, 50 e 90) da formulação em pó a base de líquido da castanha do caju (LCC) a 10% em larvas de *A. aegypti*. Os bioensaios foram desenvolvidos em quadruplicata com 100 larvas de *A. aegypti* do terceiro estágio. A formulação a base do LCC a 10 % apresentou CL<sub>10</sub> 0,58 mg.mL<sup>-1</sup>; CL<sub>50</sub> 1,020 mg.mL<sup>-1</sup>; CL<sub>90</sub> 1,769 mg.mL<sup>-1</sup> para os teste agudos de 24 horas. Em relação ao ciclo biológico foi observado que entre concentrações 0,5 e 0,250 mg.mL<sup>-1</sup> houve mortalidade total, tanto na fase larval como na pupal, no período de observação em até 120 horas. Embora não tenha influenciado na razão sexual, causou infertilidade na população resistente. Os resultados demonstraram eficiência no controle larval e ainda interrupção da próxima geração quando submetidas às concentrações subletais ao longo do tempo, e causou infertilidade nos indivíduos que foram resistentes as menores concentrações.

**Autorização legal:** 012/ 2014 CEUA.

**Palavras-chave:** Plantas inseticidas; Produto inseticida em pó; controle da dengue.

**Apoio financeiro:** UCDB (Universidade Católica Dom Bosco), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

### Introdução

*Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) é o principal vetor dos quatro sorotipos do vírus do dengue DEN I, DEN II, DEN III e DEN IV (Garcez *et al* 2014), e também responsável pela transmissão da febre Chikungunya e do Zika vírus (Ministério Da Saúde 2014, Sociedade Internacional De Doenças Infecciosas 2015). Em 2018, a região Centro-Oeste apresentou o maior número de casos prováveis (72.000 casos; 36,2%) em relação ao total do país. Em seguida aparecem as regiões Sudeste (56.877 casos, 28,6%), Nordeste (56.011 casos, 28,2%), Norte (11.901 casos, 6,0%) e Sul (1.995 casos, 1,0%) (Secretaria de Vigilância em Saúde 2018).

Compostos derivados de plantas têm sido apresentados como alternativas de controle de vetores, não só como eficientes inseticidas, mas também por serem ambientalmente mais seguros. Os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis, ou seja, não persistem no ambiente (Mendonça *et al* 2005, Omena *et al* 2006).

A família Anacardiaceae se destaca por apresentar na constituição química a ocorrência de flavonoides, incluindo biflavonoides, terpenos, xantonas e principalmente, lipídeos fenólicos e seus derivados (Correia *et al* 2006). Vários experimentos com essa família já demonstraram o efeito larvicida de substâncias extraídas de plantas sobre diversos culicídeos (Barbosa 2008). A forma como essas substâncias é aplicada no ambiente podem variar, conforme estudos para compostos bioativos, bem como para testar atividades larvicidas de insetos (Costa *et al* 2005).

Há relatos no início da década de 90 sobre estudos em que foi usado o líquido da castanha do caju (LCC) com resultados promissores em diversas áreas, tais como: antitumoral (Kubo *et al* 1994), doenças cerebrais e cardiovasculares (Itokawa 1987, Wang *et al* 1998), potencial antimicrobiano (Lima *et al* 2000) com destaque para atividade antifúngica, larvicida e inseticida (Gusmão *et al* 2011, Porto *et al* 2013).

Neste trabalho propôs-se determinar as concentrações letais, CL (10, 50 e 90) da formulação em pó a base de líquido da castanha do caju (LCC) a 10% em larvas de *A. aegypti*.

### Metodologia

O produto comercial líquido da castanha do caju, LCC, CASHOL® (A044-11, grau de pureza 99%), contendo em média 98% de ácido anacárdico mais a presença de cardol, metilcardol e resíduos foi processado para obtenção de produto sólido em pó com LCC a 10% e grânulos com diâmetro médio de 150mesh.

Os ovos foram adquiridos a partir da colônia F1 da criação estoque do laboratório, pelo método de Serpa *et al* (2008). Para criação da colônia de larvas de *A. aegypti* foi ofertado alimento artificial adotando a metodologia de Consoli *et al* (1988) e Laranja *et al* (2003).

Para eclosão dos ovos foi utilizado um litro e meio com água desclorada, e realizada a correção de pH para faixa entre 6,5 e 7.

A metodologia utilizada para os bioensaios foi adaptada de Serpa *et al* (2008); Laranja *et al* (2003) e Shaalan *et al* (2005), na qual o produto formulado foi inicialmente avaliado quanto as suas concentrações letais larvicida, obtendo assim os CL para 10, 50 e 90% da população exposta. Sequencialmente, após a definição da dosagem sub letal, foram conduzidos testes na biologia do inseto.

Para avaliação da curva de letalidade seguiram padrões com quatro grupos de 25 larvas de *A. aegypti* de terceiro estágio, nas concentrações de 2 a 0,02 mg.mL<sup>-1</sup>, em escala logarítmica com total de oito amostras por concentração. Como testemunha foi utilizado um grupo mantido em água destilada (controle) e outro apenas com o inerte. A temperatura foi programada na BOD incubadora (Demanda Bioquímica de Oxigênio) em 25°C e o fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de sombra. A avaliação da mortalidade larval foi feita contabilizando como morta cada larva que não apresentou movimentos peristálticos no meio. Metodologia adaptada de Serpa *et al* (2008). Os parâmetros observados foram: mortalidade em 24 horas (CLs).

A análise estatística dos dados foi realizada pelo método de Mclaughlin *et al* (1991), através do software Leora® (POLO 97355947870655352), para definir as concentrações letais no intervalo de confiança de 95 % de significância e determinar a menor dosagem tóxica. Para comparação das médias no programa Assistat 7.7 beta ® INPI 0004051-2 (Silva e Azevedo 2009). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento e 25 larvas por unidade experimental.

## Resultados e Discussão

A decisão de incorporar uma matriz inerte na formulação em teste foi para tornar o produto seguro para manipulação, mais fácil o armazenamento e estável no que diz respeito a suas composições químicas. A formulação de LCC a 10 % teve a CL<sub>10</sub> estabelecida em 0,58 mg.mL<sup>-1</sup> num intervalo de confiança entre 0,49 a 0,65 mg.mL<sup>-1</sup>. Já as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> obtidas foram 1,020 mg.mL<sup>-1</sup> e 1,769 mg.mL<sup>-1</sup> respectivamente (Tabela 1).

**Tabela 1.** Concentrações letais do produto em pó a base do líquido da castanha do caju (LCC) a 10% e Rotenona (controle) para larvas de *A. aegypti*.

Concentração Letal	Faixa de concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )	
	Pó 10%	Rotenona (controle)
CL <sub>10</sub>	0,588 (0,495 – 0,658)	0,02 (0,0001 – 0,21)
CL <sub>50</sub>	1,020 (0,927 – 1,165)	0,06 (0,0166 – 2,12)
CL <sub>90</sub>	1,769 (1,468 – 2,435)	20,99 (12,48 – 42,39)

Em todas as concentrações testadas pode-se observar um escurecimento no trato digestivo das larvas quando comparada com as larvas do controle (Figura 1). Esse efeito foi também observado no experimento com LCC indicando atividade do produto mesmo em baixa concentração.



**Figura 1.** Efeito ao produto em pó a base do líquido da castanha do caju (LCC) a 10% em larvas de *A. aegypti*. (A) Larva do controle; (B) Larva do tratamento.

O controle efetivo dos vetores deve dispor de várias alternativas, adequadas à realidade local, que permitam sua execução de forma integrada e seletiva. O monitoramento e manejo da resistência fazem-se necessário, assim como o uso de substâncias com modos de ação diferentes dos inseticidas químicos convencionais, são elementos de suma importância em qualquer programa de controle de vetores (Braga & Valle 2007).

A atividade do LCC e derivados em estágios imaturos de *A. aegypti* foram demonstrados com resultados

de alta eficácia no controle de ovos, larvas e pupas, sem apresentar significativa toxicidade aguda das doses administradas por via oral a animais de laboratório (Farias *et al* 2009, Guissoni *et al* 2013). Porto *et al* (2013) em teste sobre a atividade larvicida do LCC em *A. aegypti* observaram que, mesmo depois de seis meses de armazenamento, o LCC continuou apresentando atividade para os organismos dessa espécie. Consoli *et al* (1989) avaliaram a ação repelente do ácido anacárdico, componente presente no líquido da castanha de caju, frente ao *A. aegypti* e observaram atração da fêmea e oviposição em concentrações subletais de até 10 ppm. Portanto, o LCC pode apresentar diversas ações sobre larvas de *A. aegypti*, como inseticida, larvicida, ovicida ou até mesmo como armadilha atrativa.

Rey *et al* (1999a) e David *et al* (2000) constataram que derivados botânicos afetam primariamente o epitélio do intestino médio e afeta secundariamente o ceco gástrico e o túbulo de Malpighi das larvas de *A. aegypti*. Efeitos coincidentes foram observados por Dourado *et al* (2015), que relataram diferenças qualitativas de acordo com sua localização ao longo do intestino médio e quantitativas de acordo com a concentração, duração do tratamento, e espécies de mosquitos.

### Conclusões

O produto em pó a base do líquido da castanha do caju (LCC) a 10%, apresenta como principal ativo o ácido anacárdico e mostrou-se promissor no controle de larvas de *A. aegypti*, com vantagens do produto ao apresentar mortalidade em baixa concentração letal e alterar a coloração no trato digestório.

### Referências bibliográficas

- Braga IA, Valle D (2007) *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde. 16:4, 279-293.
- Consoli AGB, Mendes NM, Santos BS, Lamounier MA (1989) **Influência de vários extratos vegetais sobre o comportamento de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório**, 84:1.
- Correia SJ, David JP, David JM (2006) **Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae**. Química Nova, 29:6, 1287-1300.
- Costa ELN, Silva RFP, Fiuza LM (2005) **Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas**. Acta Biológica Leopoldensia, 26:02, 173- 185.
- David JP, Rey D, Pautou MP, Meyran JC (2000) **Differential toxicity of leaf litter to dipteran larvae of mosquito developmental sites**. Journal Invertebrate Pathology, 75, 9– 18.
- Farias DF, Cavalheiro M, Viana SM, De Lima GPG, Da Rocha-Bezerra LCB, Carvalho AFU (2009) **Insecticidal action of sodium anacardate from Brazilian cashew nut shell liquid against *Aedes aegypti***. Journal American Mosquito Control Association 25:3, 386–9.
- Garcez WS, Garcez FR, Silva LMGE, Sarmiento UC (2014) **Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti***. Disponível em: <<http://www.uff.br/rvq>>; acesso em Julho de 2014.
- Guissoni ACP (2013) **Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* com alternativa de controle para *Aedes aegypti* e sua toxicidade em animais de laboratório**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais; 15:3, 363-367.
- Gusmão DH, Santos K, Dourado DM, Matias R (2011) **Controle de qualidade do produto a base do ácido anacárdico**. In: iv seminário interno de iniciação científica e 4º encontro de pós-graduação stricto sensu da universidade Anhanguera-Uniderp; Campo Grande: Universidade Anhanguera – Uniderp.
- Itokawa Y (1987) **Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L**. Chemical Pharmaceutical; Bulletin, 35:, 16-20.
- Kubo I, Kinst-Hori I, Yokokawa Y (1994) Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. Journal of Natural Products; 57:, 545-551.
- Laranja AT, Manzatto AJ, Bicudo HEMC (2003) **Effects of caffeine and used coffee grounds on biological features of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) and their possible use in alternative control**. Genetic and Molecular Biology; 26, 419-429.
- Lima CAA, Pastore GM, Lima EDPA (2000) **Study of the antibacterial activity of anacardic acids from the cashew *Anacardium occidentale* nut shell oil of the clone of cashewmidget precocious CCP-76 and and CCP-09 in five stages of maturation on oral microorganisms**. Ciência e Tecnologia de Alimentos; 20:3, 358-362.
- McLaughlin JL, Chang C, Smith DI (1991) **Bench-top bioassays for the discovery of bioactive natural**

**products: an update.** In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*. 1991;9. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 383-409.

Mendonça FAC, Silva KFS, Santos KK, Júnior KALR, Ana AEGS (2005) **Activies of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*.** *Fitoterapia*; 76, 629-6362005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2014) **Fundação Nacional da Saúde. Controle de Vetores – Procedimentos de segurança.** Brasília: Ministério da Saúde.

Omena MC, Navarro DMAF, Paula JE, Luna JS, Lima MRF, Ana AEGS (2006) **Larvicidal activies against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants.** *Biorsource Technology*; 98, 2549-2556.

Porto KRA, Roel AR, Machado AA, Cardoso CAL, Severino E, Oliveira JM (2013) **Atividade inseticida do líquido da castanha do caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** *Revista Brasileira de Biociências*;11:4, 419-422.

Rey D, Cuany A, Pautou M, Meyran J (1999) **Differential sensitivity of mosquito taxa to vegetable tannins.** *Journal Chemical Ecology*; 25, 537– 48.

Secretaria de Vigilância em Saúde (2015) **Monitoramento dos casos de dengue e febre de Chikungunya até a Semana Epidemiológica 15, 2015.** ISSN 2358-9450; 46:14.

Serpa LLN, Monteiro SDCB, Voltolini JC (2008) **Efeito da água de criação larval na oviposição de *Aedes aegypti* em laboratório.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*; 41:5, 515-517.

Shaalán EAS, Canyon DV, Younes MWF, Wahab HA, Mansour HA (2005) **Efects of sub-lethal concentrations of synthetic insecticides and *Callitris glaucophylla* extracts on the development of *Aedes aegypti*.** *Journal of Vector Ecology*; 30, 295–298.

Wang D (1998) **Inhibitory activity of unsaturatéd fatty acids and anacardic acids toward soluble tissue factor-factor VIIa complex.** *Journal of Natural Products*; 62, 1352-1355.