

## ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO ETANÓLICO DA RAIZ DE *CROTON LINEARIFOLIUS* SOBRE *AEDES AEGYPTI*

---

Gledna Pereira de Oliveira<sup>1</sup>, Sandra Lúcia da Cunha e Silva<sup>2</sup>, Simone Andrade Gualberto<sup>2</sup>, Rômulo Carlos Dantas da Cruz<sup>3</sup>, Karine da Silva Carvalho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Ambientais – PPGCA/UESB. teka.oliveira@hotmail.com.

<sup>2</sup>Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais (LAPIN)/Núcleo de Pesquisa em Química Aplicada/Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Praça Primavera, 40, Bairro Primavera, Itapetinga, Bahia. Cep: 45700-000, Brasil.

<sup>3</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – PPGCA/UESB

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

---

### RESUMO

As plantas constituem fontes naturais de compostos bioativos, com propriedades farmacológicas e inseticidas comprovadas em várias espécies. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius* sobre *Aedes aegypti*, bem como realizar a prospecção fitoquímica desse extrato. Para a realização do bioensaio foram utilizadas larvas de terceiro instar, as quais foram expostas às concentrações de 13,3; 6,7; 4,0; 2,0 e 0,7 mg/mL. A partir da análise dos dados verificou-se que não houve diferença significativa no percentual de mortalidade larval entre as concentrações de 13,3 (11,70%), 6,4 (11,70%), 4,0 (4,70%), 2,0 (5,87%) e 0,7 mg/mL (3,37%), sendo que as duas maiores concentrações diferiram significativamente do controle, após 24 horas de exposição das larvas ao extrato. A prospecção fitoquímica indicou a presença de alcaloides, esteróides, flavonóis, flavanonas, taninos, triterpenoides e xantonas. Os resultados obtidos demonstraram a baixa efetividade do extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius* sobre larvas de *A. aegypti*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Caatinga, dengue, inseticida botânico, prospecção fitoquímica.

### LARVICIDAL ACTIVITY OF THE ROOT ETHANOLIC EXTRACT OF *CROTON LINEARIFOLIUS* ON *AEDES AEGYPTI*

#### ABSTRACT

Several plant species are natural sources of bioactive substances that have pharmacological and insecticidal properties. This study aimed to evaluate the larvicidal properties of the root ethanolic extract of *Croton linearifolius* on *Aedes aegypti* and to conduct phytochemical screening of the extract. For this purpose, in a laboratory bioassay, we exposed third instar larvae to the following root extract concentrations: 13.3, 6.7, 4.0, 2.0, and 0.7 mg/mL. The results showed no significant difference in larval mortality among the root extract concentrations: 13.3 (11.70%), 6.4 (11.70%), 4.0 (4.70%), 2.0 (5.87%), and 0.7 mg/mL (3.37%). The two highest concentrations, however, did show significant differences from the controls after 24 h of exposure. The phytochemical screening indicated the presence of alkaloids,

steroids, flavonols, flavanones, tannins, triterpenoids, and xanthenes. Our results showed the low efficacy of the root ethanolic extracts of *C. linearifolius* as a larvicide for the control of *A. aegypti*.

**KEYWORDS:** Caatinga, plant insecticide, dengue fever, phytochemical screening.

## INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), apresenta uma ampla dispersão urbana, sobretudo nos países tropicais e subtropicais. Originário do continente africano foi disseminado para as Américas, durante o processo de colonização, onde desenvolveu elevado grau de sinantropia (LIMA et al., 2009; HEMME et al., 2010). Sendo o principal transmissor do dengue, esta espécie é responsável por frequentes epidemias, especialmente no continente americano, considerado, portanto, um dos insetos de maior relevância médico sanitária (AZEVEDO et al., 2011; DUARTE et al., 2013).

Nas últimas décadas, o número de casos da dengue, tem sido crescente. Estima-se que de 50 a 100 milhões de novas pessoas, anualmente, sejam infectadas, havendo uma grande disseminação dessa doença em áreas anteriormente não afetadas. Assim, a dengue representa um grave problema de saúde pública em nível mundial (LA RUCHE et al., 2010; WHO, 2012).

A partir da década de 70, várias substâncias foram utilizadas como inseticida na tentativa de controlar esse vetor, tais como o arsênico, o mercúrio, o enxofre, os organoclorados e organofosforados, e ainda o piretróide, substância mais usada pelos órgãos de saúde pública para combate aos vetores de doenças. Porém, com o uso indiscriminado desses agentes, muitos culicídeos, incluindo o *Aedes aegypti*, passaram a desenvolver resistência frente a seus compostos, fenômeno relatado em diversos países, como Cuba, Caribe, Venezuela, assim como também no Brasil (BRAGA & VALLE; 2007; PINTO & FERNÁNDEZ, 2009).

O surgimento de populações de mosquitos resistentes revela a necessidade de mudanças nas ações de controle e manejo destes produtos e, nesse contexto, diversas espécies de plantas com potencial inseticida, poderiam vir a contribuir de maneira significativa para o controle do *A. aegypti*, conforme ressaltado por GARCEZ et al. (2013). Contudo, não basta apresentar toxicidade sobre o *A. aegypti*, tais inseticidas deverão apresentar baixa toxicidade para os mamíferos, serem seletivos, além de biodegradáveis, reduzindo, dessa forma, o impacto sobre a biodiversidade.

Apesar de esquecidos ao longo das últimas décadas, o interesse em desenvolver inseticidas botânicos para o manejo de pragas tem aumentado (AGUIAR-MENEZES, 2005), a exemplo dos diversos estudos conduzidos com o gênero *Croton* (Linnaeus, 1753), um dos maiores e mais diversos da família Euphorbiaceae (LIMA et al., 2006).

Muitas espécies do gênero *Croton* podem ser encontradas na Caatinga, bioma que representa 54% da região nordeste e 11% do território nacional, que vem sofrendo acelerada degradação do seu potencial florestal devido à ação antrópica (ALVES et al., 2009).

Também encontrada na Caatinga, *Croton linearifolius* (Müller Argoviensis, 1873) (Euphorbiaceae: Crotonoideae), alvo desse estudo, popularmente conhecida como “velame pimenta”, pode apresentar um grande potencial químico e inseticida,

de acordo com estudo realizado com o extrato etanólico obtido do caule dessa espécie, que revelou o seu potencial inseticida sobre adultos de *Cochliomyia macellaria* (SILVA et al., 2010).

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius* sobre o *A. aegypti*, bem como a realização da prospecção fitoquímica desse extrato.

## MATERIAL E MÉTODOS

As raízes de *C. linearifolius*, foram coletadas na Floresta Nacional Contendas do Sincorá, situada no município de Contendas do Sincorá, região do Sudoeste da Bahia. As etapas de coleta e identificação da espécie foram supervisionadas por um botânico especialista e as exsiccatas depositadas no herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana, sob o registro HUEFS 146620.

Posteriormente, as raízes foram secas em estufa de circulação de ar a 50°C por 48 horas e então foi realizada a moagem, em moinho de facas. O extrato etanólico foi obtido por percolação em etanol, e depois concentrado em evaporador rotatório.

As larvas utilizadas nos bioensaios foram oriundas de uma colônia estabelecida no Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, a partir de ovos da linhagem Rockefeller, cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes e Vetores (LAFICAVE), da Fundação Oswaldo Cruz, do Rio de Janeiro.

Para a realização do ensaio larvicida utilizou-se 30 larvas de terceiro ínstar de *A. aegypti* por repetição, totalizando 120 larvas por tratamento. Foram utilizadas cinco concentrações do extrato etanólico por tratamento (13,3 mg/mL; 6,7 mg/mL; 4,0 mg/mL; 2,0 mg/mL e 0,7 mg/mL). Como solvente para a solubilização do extrato etanólico, bem como para obtenção da solução a ser usada no grupo controle, foi usado o dimetilsulfóxido e água deionizada, na proporção de 6:4.

O experimento foi conduzido em sala climatizada, com temperatura e umidade média de 27°C e 70%, respectivamente. As observações da mortalidade larval foram realizadas 1, 4, 8, 16 e 24 horas após a montagem do experimento. Os percentuais de mortalidade das larvas foram submetidos ao teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Paralelo à realização do ensaio larvicida foi conduzida a prospecção fitoquímica do extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius*, de acordo com a metodologia preconizada por MATOS (1988), que consistiu na preparação de um extrato hidrofílico (etanol/água) e outro lipofílico (clorofórmio). Posteriormente, esses extratos foram submetidos a uma marcha analítica prospectiva, com o objetivo de detectar os seguintes constituintes químicos: ácidos fixos fortes, alcalóide, antocianidina, antocianina, base quaternária, catequina, cumarina, esteróide, flavonóis, flavanonóis, flavanona, flavona, heterosídeo cianogênico, leucoantocianida, quinona, resina, saponina, tanino, triterpenóide e xantona.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa na mortalidade larval entre as cinco concentrações avaliadas e o grupo controle, nas observações realizadas com 1, 4, 8 e 16 horas, após a montagem do experimento, assim como não houve diferença entre o grupo controle e as concentrações de 4,0; 2,0 e 0,7 mg/mL, após 24 horas

de observação (Tabela 1). Contudo, a mortalidade larval nas concentrações de 13,3 e 6,4 mg/mL, após 24 horas de exposição, foram significativamente mais efetivas quando comparadas ao grupo controle (Tabela 1).

**TABELA 1.** Percentual de mortalidade de larvas de terceiro ínstar de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações (mg/mL) do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius*.

Concentrações (mg/mL)	Mortalidade (%) <sup>1</sup>				
	1 h	4 h	8 h	16 h	24 h
13,3	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	4,22 <sup>a</sup>	11,70 <sup>a</sup>
6,7	0,85 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	5,05 <sup>a</sup>	11,70 <sup>a</sup>
4,0	2,52 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	4,17 <sup>ab</sup>
2,0	1,67 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>	4,20 <sup>a</sup>	4,20 <sup>a</sup>	5,87 <sup>ab</sup>
0,7	0,85 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>	2,52 <sup>a</sup>	3,37 <sup>ab</sup>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Diversos autores citam a eficácia de plantas do gênero *Croton* para o controle de *A. aegypti*. Segundo LIMA (2006) caules e folhas de *Croton argyrophylloides*, *Croton nepetaefolius* e *Croton zehntneri* ocasionaram 100% de mortalidade em larvas de *A. aegypti*.

Para CRUZ et al. (2009), o poder inseticida do *Croton* encontra-se principalmente em suas sementes. Contudo, em um estudo realizado por SILVA et al. (2010), o extrato etanólico do caule de *C. linearifolius*, ocasionou 63,75% de mortalidade em indivíduos adultos de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), diferindo significativamente do grupo controle.

Por outro lado, o fato do extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius* não ter apresentado toxicidade sobre larvas de *A. aegypti*, não invalida a possibilidade de outras partes anatômicas da planta apresentar.

Outro aspecto a ser destacado, é que o extrato de uma planta pode não apresentar um efeito larvicida, contudo poderá afetar os processos fisiológicos da larva, interferindo, dessa forma, no seu potencial biótico. Nesse contexto, embora o extrato tenha ocasionado um baixo percentual de mortalidade (Tabela 1), não se pode afirmar que o mesmo não tenha nenhum efeito sobre as larvas de *A. aegypti*, para tal faz-se necessário avaliar a viabilidade larval, pupal, bem como a longevidade e o potencial reprodutivo das larvas expostas ao extrato (SILVA et al., 2010).

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius* revelou a presença de alcalóides, esteróides, flavonóis, flavanonas, taninos, triterpenóide e xantonas (Tabela 2).

Segundo AGUIAR-MENEZES (2005), alcalóides, flavonoides e triterpenoides vêm sendo associados à atividade inseticida. RANDAU et al. (2004), ressaltaram a riqueza de metabólitos secundários em espécies do gênero *Croton*, tais como flavonóides, alcalóides e terpenoides, que foram considerados predominantes no gênero *Croton* (SALATINO et al., 2007).

Vale ressaltar que a produção dos metabólitos secundários pode variar em

função do estresse climático sofrido pela espécie ou em função da época em que a planta é coletada, influenciando, dessa forma, na atividade inseticida. Assim, o local de coleta, bioma caatinga, deve ser levado em consideração na análise dos compostos encontrados devido às altas variações anuais nos períodos de chuva, além de possuir períodos de seca longos e irregularidade pluviométrica, térmica e luminosa (SOUZA et al., 2010).

Em um estudo realizado por MONTEIRO et al. (2006), com as espécies *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrina*, que apresentaram produção de taninos, ficou evidente a relação entre a síntese dessa substância com os períodos de seca e de chuva.

**TABELA 2.** Prospecção fitoquímica<sup>1</sup> do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius*.

Metabólito Secundário	Etanólico
Ácidos fixos fortes	-
Alcaloides	+
Antocianidinas	-
Antocianinas	-
Catequinas	-
Cumarinas	-
Esteróides	+
Flavonóis	+
Flavanonóis	-
Flavanonas	+
Flavonas	-
Heterosídeo cianogênico	-
Leucoantocianidinas	-
Quinonas	-
Resina	-
Saponinas	-
Taninos	+
Triterpenoides	+
Xantonas	+

Resultado positivo (+), Resultado negativo (-).

<sup>1</sup>Metodologia preconizada por MATOS (1988).

### CONCLUSÃO

O extrato etanólico da raiz de *C. linearifolius*, apresentou baixa efetividade sobre as larvas de *A. aegypti*. A prospecção fitoquímica do extrato etanólico indicou a presença de metabólitos secundários relevantes no que diz respeito ao seu potencial farmacológico, o que poderá dar subsídios para futuros estudos com a raiz ou com outras partes anatômicas dessa espécie.

### AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

## REFERÊNCIAS

AGUIAR-MENEZES, E. L. Inseticida botânico: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**. Seropédica, RJ. 2005. 58 p.

ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da caatinga: uma investigação Ecogeográfica. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.

AZEVEDO, T. S.; PIOVEZAN, R.; ZUBEN, C. J. V.; ANDRÉ, I. R. N.; DE ALMEIDA, D. Perfil epidemiológico da dengue no município de rio claro no período de 1996 a 2010. **HYGEIA, Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Uberlândia, v. 7, n. 12, p. 19-30, 2011.

BRAGA I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p: 279-293, 2007.

CRUZ, C. S. A.; MEDEIROS, M. B.; WANDERLEY, M. J. A. Efeito de cinco pós vegetais sobre a mortalidade de cupins *Nasutitermes* sp. (Isoptera: termitidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, n.1, p. 15-18, 2009.

DUARTE, E. H.; PEREIRA, J.; OLIVEIRA, H.; LIMA, H. S.; PEREZ, a.; PILE, E. *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera: Culicidae) em algumas ilhas de Cabo Verde: Tipologia dos criadouros e sua relação com a presença larval. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 3, p. 359-362, 2013.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

HEMME, R. R.; THOMAS, C. L.; CHADEE D. D.; SEVERSON, D. W. Influence of urban landscapes on population dynamics in a short-distance migrant mosquito: evidence for the dengue vector *Aedes aegypti*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, Nova York, v. 4, p. 1-9, 2010.

LA RUCHE, G. SOUARÈS, Y.; ARMENGAUD, A. F.; PELOUX-PETIOT, P.; DELAUNAY, P.; DESPRÉS, P.; LENGLET, A.; JOURDAIN, F.; OLLIER, L. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September. **Euro Surveill**, v. 15, n. 39, p. 196-176, 2010.

LIMA, M. G. A.; MAIA, I. C. C.; SOUSA, B. D.; MORAIS, S. M.; FREITAS, S. M. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 4, p. 211-214, 2006.

LIMA, W. P.; CHIARAVALLI NETO, F.; MACORIS, M. L. G.; ZUCCARI, D. A. P. C.; DIBO, M. R. Estabelecimento de metodologia para alimentação de *Aedes aegypti*

em camundongos e avaliação da toxicidade do óleo essencial de *Tagetes minuta* sobre o *Aedes aegypti*. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 6, p. 638-641, 2009.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Editora da UFC, 1988. 141p.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; NETO, E. M. F. L.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, M. M.; AMORIM, E. L. C. The effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 3, p. 338-344, 2006.

PINTO, E. E. P.; FERNÁNDEZ, D. M. Resistência focal a inseticidas organosintéticos em *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. **Boletín de Malariología y Salud Ambiental**, Maracay, v. 49, n. 1, p. 143-150, 2009.

RANDAU, K. P.; FLORÊNCIO, D. C.; FERREIRA, C. P.; XAVIER, H. S. Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2004.

SALATINO, A.; SALATINO M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São paulo, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SILVA, S. L. C. E.; CARVALHO, M. G.; GUALBERTO, S. A.; TORRES, D. S. C.; VASCONCELOS, K. C. F.; OLIVEIRA, N. F. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 4, n. 4, p. 252-258, 2010.

SOUZA, B. D.; MEIADO, M. V.; RODRIGUES, B. M.; SANTOS, M. G. Water relations and chlorophyll fluorescence responses of two leguminous trees from the Caatinga to different watering regimes. **Acta Physiologiae Plantarum**, Cracóvia, v. 32, n. 2, p. 235–244, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2012). **Global Strategy For Dengue Prevention and Control**. Disponível em: < <http://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/> >. Acesso em: 13 mar. 2014.