



ARTIGO

Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)

Karla Rejane de Andrade Porto¹, Antonia Rilda Roel^{1*}, Alexandre Alves Machado¹,
Claudia Andréa Lima Cardoso², Elias Severino³ e Jeniffer Michelline de Oliveira¹

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2640>

Recebido: 11 de maio de 2013 Recebido após revisão: 03 de outubro de 2013 Aceito: 08 de novembro de 2013

RESUMO: (Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)). O controle da dengue se concentra na da eliminação dos criadouros das larvas ou na pulverização de inseticidas sintéticos visando o mosquito transmissor do vírus, *Aedes aegypti*. Desta forma, busca-se avaliar novos produtos de origem vegetal que sejam capazes de controlar vetores de doenças, com menor toxicidade ambiental e humana com produtos de baixo custo e acesso. O Líquido da Castanha de Caju (LCC) de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) é composto majoritariamente de ácido anacárdico em concentrações variáveis. Esse produto tem-se mostrado promissor em pesquisas laboratoriais demonstrando possuir substâncias ativas biocidas. Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar o potencial inseticida do LCC, após produção e acondicionado em condições ambientais e do mesmo após refrigeração durante seis meses, sobre larvas de *A. aegypti*, assim como determinar a sua constituição química quantitativa e qualitativa. O ácido anacárdico in natura ou congelado demonstra o mesmo perfil de toxicidade, mantendo sua dosagem e utilização em 0,013% como causadora de mortalidade larval. O LCC testado possui 69% de ácido anacárdico.

Palavras-chave: Dengue, controle de vetores, ácido anacárdico, triterpenoides, Anacardiaceae.

ABSTRACT: (Insecticidal activity of Net of Cashew Nut on *Aedes aegypti* larvae (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)). To control the Dengue Fever epidemic it is necessary to eliminate the breeding of the mosquito *Aedes aegypti*, which transmits the virus, and to spray insecticides. The research seeks to evaluate new substances from native plants which are capable of controlling disease vectors, with less toxicity to humans and the environmental. The Net of Cashew Nut (LCC) of *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) is mostly composed of anacardic acid in varying concentrations. This product has shown promise in laboratory experiments demonstrating it contains biocidal active substances. The aim is to evaluate the insecticidal potential of the LCC, fresh (kept in environmental conditions) and after chilling for six months at 4 °C, on larvae of *A. aegypti*, as well as to determine their chemical constitution. The anacardic acid fresh or chilled shows the same toxicity profile while maintaining its strength and use in 0.013% to cause larval mortality. The LCC has tested 69% of Anacardic acid.

Key words: Dengue fever, vector control, anacardic acid, triterpenoids, Anacardiaceae.

INTRODUÇÃO

A dengue constitui a mais importante doença viral humana transmitida por mosquitos no Brasil e no mundo, que pode causar a dengue clássica e a febre hemorrágica da dengue (Derouich *et al.* 2003). Essa doença endêmica apresenta surto de infestação com destaque para região centro-oeste do Brasil, considerada uma zona de alta prevalência. O aumento da oferta de criadouros de larvas no processo de urbanização vem ocasionando explosões populacionais do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Culicidae), vetor do vírus no Brasil, com consequente aumento dos casos de dengue.

O uso de inseticidas químicos sintéticos constitui a principal ação para o combate dos adultos e formas imaturas do *A. aegypti*. Porém, o uso constante e em grande escala dos produtos químicos tem contribuído para o surgimento de problemas significativos, como o aumento de frequência de populações resistentes (Lima *et al.* 2006, Pereira da Cunha *et al.* 2005, Rodrigues Couto *et al.* 2000).

Pesquisas relatam o aparecimento de populações de *A. aegypti* resistentes a alguns princípios ativos utilizados. Lima *et al.* (2006) citaram que *A. aegypti* tem demonstrado ser resistente para os organofosforados (Temephos), um dos produtos utilizados no controle de adultos em muitas regiões do Brasil. Pereira da Cunha *et al.* (2005) constataram uma diminuição na susceptibilidade do *A. aegypti* da atividade do piretroides no Rio de Janeiro

O potencial dos inseticidas a base de princípios ativos vegetais proporciona a utilização de moléculas que, pela complexidade de composição, diminuem os riscos do aparecimento de resistência (Gallo *et al.* 2002). Schmutterer (1988) comenta que a ausência de resistentes aos produtos vegetais pode ser atribuída a mistura de vários componentes com diferentes modos de ação.

Espécies da família Anacardiaceae vem sendo investigadas com este fim, em especial o gênero *Anacardium* L. O potencial inseticida de princípios ativos do óleo essencial de folhas de *Anacardium humile* A.St.-Hil., o cajuzinho-do-cerrado, foi comprovado

1. Universidade Católica Dom Bosco (UCDB). Av. Tamandaré, 6000, CEP 79117-900, Campo Grande, MS, Brasil.

2. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS). Cidade Universitária de Dourados, Caixa Postal 351, CEP 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

3. Kardol Indústria Química Ltda. Rod BR-163, 902, Chácara Mansões, CEP 79079-005, Campo Grande, MS, Brasil.

Autor para contato. E-mail: arroel@ucdb.br

em experimentos com larvas de *A. aegypti*. O produto demonstrou ser eficiente provocando mortalidade em larvas de *A. aegypti* (Porto *et al.* 2008). Após análises químicas determinou-se que o óleo das folhas possui a presença majoritária de sequiterpenos e monoterpenos (Cardoso *et al.* 2010). Entretanto essa planta não é espécie domesticada, limitando pela abundância de material vegetal e oferta constante. A também Anacardiaceae, nativa da América do Sul, *Anacardium occidentale* L. conhecida como cajú, é abundante e domesticada no Brasil especialmente na região nordeste. Subproduto desta, o líquido da castanha de caju (LCC) é um líquido escuro contido no mesocarpo alveolado do fruto (denominado castanha) possui propriedades cáusticas e inflamáveis e é comercializado por indústrias, para resinas e freios, e medicinal para antissépticos e vermífugos (Mazzetto & Lomonaco 2009). A atividade letal de sub produtos do LCC em larvas de *A. aegypti* foi comprovada por Lomonaco *et al.* (2009), quando testaram o LCC técnico, cardol, cardanol e seus análogos hidrogenados.

Objetivou-se assim avaliar a atividade LCC comercial recém-produzido e acondicionado em condições ambientais e do mesmo após seis meses de refrigeração a 4 °C, sobre as larvas de *A. aegypti*. O resfriamento por seis meses aumentaria a oferta de inseticida a base de LCC durante todo o ano, considerando a época da colheita e processamento da castanha, visto que o produto armazenado em condições ambientais teria naturalmente sua atividade biocida diminuída. Também objetivou-se determinar a constituição química quantitativa e qualitativa do produto testado, em função da variação observada por diferentes fornecedores.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material de estudo

O líquido da castanha de caju (LCC), obtido de *A. occidentale*, foi cedido pela Kardol Indústria Química, Campo Grande (MS).

Bioensaios

As larvas foram obtidas da colônia iniciado com ovos coletados com o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) por meio de armadilhas tipo ovitrampas, em residências de áreas infestadas por *A. aegypti*, em Campo Grande, MS, em outubro de 2009. Após a eclosão foram separadas as larvas de *A. aegypti* para o início da colônia. Foram realizados experimentos com o produto recém-produzido acondicionado e do produto após seis meses de refrigeração a 4 °C.

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados, utilizando 25 larvas para cada concentração, em quadruplicata. Os adultos foram mantidos a partir de repasto sanguíneo com pombos, metodologia de Consoli *et al.* (1998). Foram utilizadas larvas de 3° instar de *A. aegypti*, oriundas da colônia, na primeira geração, F1, e de acordo com a metodologia preconizada

pela Organização Mundial de Saúde. As larvas foram submetidas à exposição em contato com a solução por 24 horas, com volume final de 25 mL, em recipientes de louça devidamente isolados com tela de *nylon* e elástico. As concentrações utilizadas foram: 10mg.mL⁻¹, 1mg.mL⁻¹, 0,1mg.mL⁻¹, 0,01mg.mL⁻¹, 0,001mg.mL⁻¹ diluído com solubilizante Dimetilsulfóxido (DMSO) (1%). Foram utilizados como controle negativo DMSO em solução aquosa e solução de Rotenona, como controle positivo. Após o período de 24 horas foi observado o número de mortos por meio da estimulação com a pipeta Pasteur.

Para a determinação das Concentrações Letais utilizou-se Probit (McLaughlin 1991), através do software Leora® (POLO 97355947870655352).

Análise química

A análise do produto LCC foi realizada em um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (modelo Varian 210) detector de arranjo de diodos (DAD) e o software Star WS (Workstation 2.0). A coluna utilizada foi de fase reversa C-18 (25 cm x 4,6 mm x 5µm) e pré-coluna (2,5 cm x 3 mm) de mesma fase da coluna (Phenomenex). A eluição foi realizada empregando sistema gradiente de acetonitrila/água/ácido acético (66/33/2v:v:v) (A) e tetrahydrofurano (B), o qual iniciou a eluição com 10% de B em 40 minutos atingiu 100% de B.. A vazão de fluxo da bomba foi de 1mL/min e o volume injetado foi de 20 µL. A análise foi conduzida a 22 °C, tanto no preparo da curva analítica quanto na análise do produto e as injeções foram realizadas em triplicata.

O produto (10 mg) foi solubilizado em acetonitrila/água/ácido acético (66/33/2v:v:v) e o volume completado para balão volumétrico de 10 mL com o mesmo sistema solvente, fornecendo uma concentração final de 1000 µg/mL. A curva de padrão externo empregada para quantificar o ácido anacárdico no produto LCC foi preparada empregando o composto com 97% de pureza em concentrações entre 100-1000 µg/mL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação e o desenvolvimento de novos produtos a base de princípios ativos de plantas nativas pode proporcionar vantagens ambientais e ainda pode retardar o aparecimento de populações resistentes. O líquido da castanha-do-caju, extraído de planta nativa brasileira, *A. occidentale* é um produto de baixo valor industrial que tem mostrado potencial inseticida. A produção fica, entretanto, restrita a épocas da colheita e é armazenada em condições ambientais em frascos protegidos apenas da luminosidade.

Estudo realizado com dezoito extratos e dezessete óleos de plantas brasileiras contra larvas de *A. aegypti* (Mendonça *et al.* 2005) demonstrou que apenas seis plantas estavam ativas de acordo com a norma aceita baseada na Concentração Letal (CL). O óleo da castanha de caju (*A. occidentale*) foi a amostra que demonstrou ser ativo com valor de CL₅₀ de 14,5 mg.L⁻¹.

Também Farias *et al.* (2009) descreveram que o produto do LCC, sodium anacardate, originado do ácido anacárdico, onde resultou em CL_{50} para larvas de *A. aegypti* de 55,47 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Relataram também que o produto não causa efeitos adversos em ratos, sugerindo ser seguro para mamíferos.

De acordo com os dados do presente experimento os dois testes realizados com o LCC recém-produzido e o submetido ao resfriamento a 4 °C por seis meses causaram mortalidade em torno de 70% em diluição de até 0,1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ mas com pouca atividade nas diluições abaixo de 0,01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figs. 1 e 2). Enquanto no controle positivo, rotenona, atestou 100% de mortalidade e nenhuma morte foi observada no controle negativo, sem o produto ($R^2 > 0,90$, ou seja, 0,9181 e 0,9328 respectivamente para o produto recém-produzido e após refrigeração).

A CL_{50} do produto recém-produzido e do produto após congelamento ficou na faixa entre 0,07 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,009 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. A concentração capaz de produzir 95% de mortalidade (CL_{95}) é de 0,013 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ para o produto recém produzido (Fig. 1). Mesmo após seis meses em refrigeração a 4 °C, a atividade da CL_{95} pouco foi alterada, 0,016 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Fig. 2).

Foram indicados por Shaalan *et al.* (2005) como potencialmente ativos os extratos que causam 100% de mortalidade em doses de até 10 mg/L . Foram recomendados as séries ascendentes de concentrações para testes apurados: 1000, 500, 100, 10 e 5 $\mu\text{g}/\text{L}$. Laurens *et al.* (1997) também descreveram que o ácido anacárdico isolado de *A. occidentale* demonstrou ser um potente antivetorial, mas para larvas de 1º instar de *A. aegypti* com CL_{50} de 1,5-12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Ainda de acordo com Consoli *et al.* (1989) os ácidos anacárdicos obtidos de *A. occidentale* mostrou-se larvicida na concentração de 10 ppm contra *Aedes fluviatilis*

(Lutz). De acordo com Shaalan *et al.* (2005) larvas de mosquitos de diferentes espécies demonstram diferentes susceptibilidades ao mesmo fitoquímico e acrescentam que, entretanto, larvas de *Aedes* spp são menos susceptíveis aos extratos vegetais que as de *Culex* spp.

Observou-se que o LCC recém-produzido mantido em condições ambientais e o mantido em resfriamento mostraram mesmo perfil de toxicidade para *A. aegypti*, mesmo sendo submetidos a condições diferenciadas de armazenamento. Este manteve sua dosagem e utilização da CL_{50} em torno de 0,01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ para causar mortalidade na população estudada *in vitro* (Figs. 1 e 2).

Os dados da análise química do LCC testado foram obtidos por CLAE-DAD, e o LCC testado apresentou $69,0 \pm 1,3\%$ de ácido anacárdico. O LCC natural contém os componentes fenólicos: ácido anacárdico (71,7 a 82%), cardanol (1,6 a 9,2%), cardol (13,80 a 20,1%), 2-metilcardol (1,65 a 3,9%) e componentes minoritários (2,2%) (Mazzetto *et al.* 2009); já o LCC técnico, devido ao processo de aquecimento contínuo de polimerização nos constituintes ensaturados, possui: ácido anacárdico (1,09 a 1,75%), cardanol (67,82 a 94,60%), cardol (3,80 a 18,86%), 2-metilcardol (1,20 a 4,10%), componentes minoritários (3,05 a 3,98%) e material polimérico (0,34 a 21,63%).

Pode-se concluir que o LCC da empresa Kardol recém-produzido é eficiente como inseticida para larvas de *A. aegypti*, e que contém componentes semelhantes aos citados na literatura. Mesmo após refrigeração por um período de seis meses, os princípios ativos continuam com a mesma eficiência, comprovando seu potencial como inseticida para o controle de *A. aegypti* indicando que, mesmo na entre safra da produção de caju, o LCC pode ser refrigerado para utilização como inseticida, pois o mesmo mantém a eficiência.

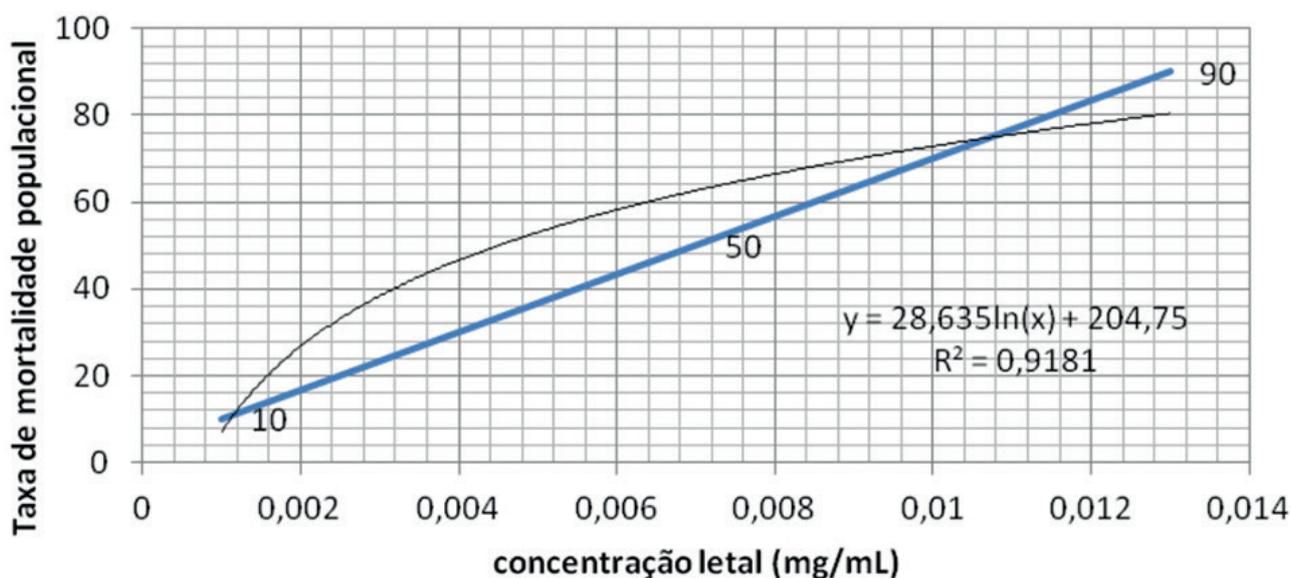


Figura 1. Concentrações Letais (CL) em mg/mL do Líquido de castanha de caju (LCC) mantidos em condições ambientais e recém produzido sobre larvas de *Aedes aegypti* (Culicidae).

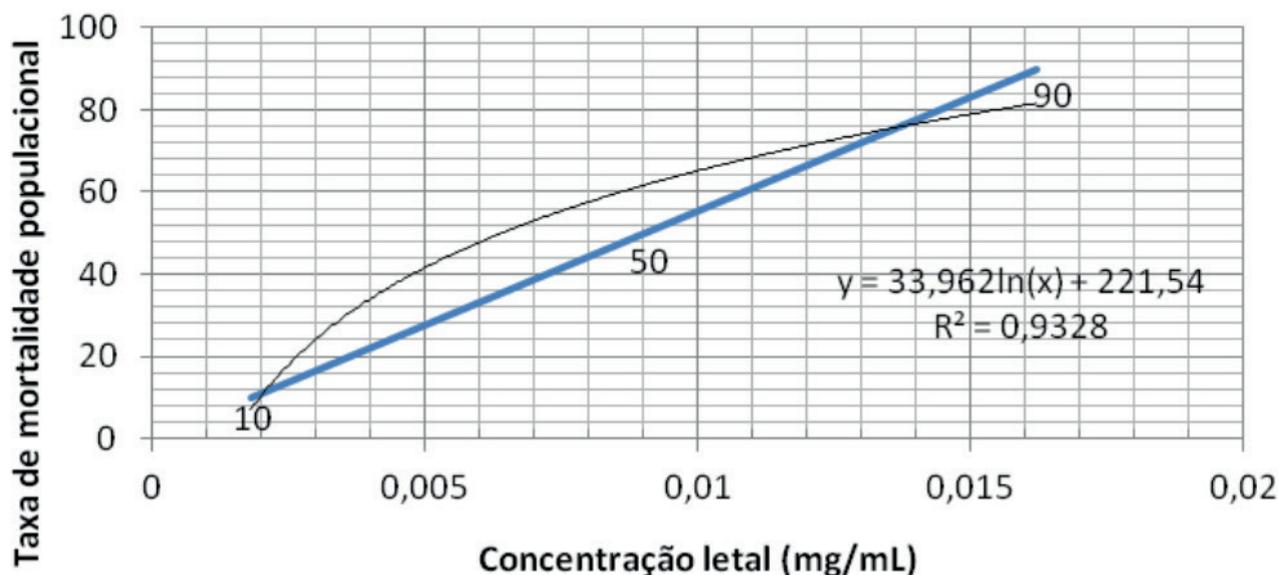


Figura 2. Concentrações Letais (CL) em mg/mL do Líquido de castanha de caju (LCC), após refrigeração por seis meses a 4 °C, sobre larvas de *Aedes aegypti* (Culicidae).

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisas do Pantanal (CPP), ao Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT) e à Fundação de Suporte de Ensino, Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

REFERÊNCIAS

- CONSOLI, R.A., MENDES, N.M., PEREIRA, J.P., SANTO, S.B.S. & LAMOUNIER, M.A. 1989. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência das larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83: 87-93.
- DEROUICH, M., BOUTAYEBAND, A. & TWIZELL, E.H. 2003. A model of dengue fever. *Bio Medical Engineering*, 2: 4. doi:10.1186/1475-925X-2-4
- FARIAS, D.F., CAVALHEIRO, M.G., VIANNA, S.M., LIMA, G.P.G., ROCHA-BEZERRA, L.C.B. da, RICARDO, N.M.P.S. & CARVALHO, A.F.U. 2009. Insecticidal action of sodium anacardate from Brazilian Cashew Nut Shell Liquid against *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 25(3): 386-389.
- GALLO, D.; NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BAPTISTA, G.C., BERTI FILHO, E., PARRA, J.R.P., ZUCCHI, R.A., ALVES, S.B., VENDRAMIM, J.D., MARCHINI, L.C., LOPES, J.R.S. & OMOTO, C. 2002. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ. 920 p.
- LAURENS, A., FOURNEAU, C., HOCQUEMILLER, R., CAVÉ, A., BORIES, C. & LOISEAU, P.M., 1997. Antivectorial activities of cashew nut shell extracts from *Anacardium occidentale* L. *Phytother. Res*, 11: 145-146.
- LIMA, E.P., OLIVEIRA FILHO, A.M.O., OLIVEIRA LIMA, J.W., RAMOS JÚNIOR, A.N.R., CAVALCANTI, L.P.G. & PONTES, R.J.S. 2006. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 39: 259-263
- LOMONACO, D., GILVANDETE MARIA PINHEIRO SANTIAGO,

G.M.P., FERREIRA, Y.S., ARRIAGA, A.M.C., MAZZETTO, S.E., MELE, G. & VASAPOLLO, G. 2009. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green. Chem.*, 11: 31-33.

MAZZETTO, S.E. & LOMONACO, D. 2009. O óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Quim. Nova*, 32(3): 732-741.

McLAUGHLIN, J.L., CHANG, C. & SMITH, D.I. 1991. Bench-top bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol.9. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. p. 383-409.

pp. 383-409 MENDONÇA, F.A.C., SILVA, K.F.S., SANTOS, K.K., RIBEIRO JÚNIOR, K.A.L. & SANTANA, A.E.G. 2005. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, 76: 599-798.

PEREIRA da CUNHA, M., LIMA, J.P.B., BROGDON, V., MOYA, G.E., VALLE, D. 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100(4): 441-444.

PORTO, K.R. DE A., ROEL, A.R., SILVA, M.M., COELHO, R.M., SCHELEDER, E.J.D. & JELLER, A.J. 2008. Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 41(6): 586-598.

RODRIGUEZ-COTO, M.M.; LASCANO, J.A.B.; MOLINA DE FERNANDEZ, D., SOCA. 2000. Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* after its use in *Aedes aegypti* control programs. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 16(4): 324-330.

SCHMUTTERER, H. 1988. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.*, 34: 713-719.

SHAALAN, E.A-S., CANYON, D., MOHAMED, W.F.Y., ABDELWAHAB, H. & ABDEL-HAMID, M. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environ. Int.*, 31: 1149-1166.