



ARTIGO

Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:Culicidae)¹

Marilza da Silva Costa^{2*}; Mônica Josene Barbosa Pereira³; Simone Santos de Oliveira⁴,
Paulo Teixeira de Souza⁵, Evandro Luiz Dall'oglio⁵ e Thayana Conceição Alves⁵

Recebido: 22 de agosto de 2012 Recebido após revisão: 12 de maio de 2013 Aceito: 20 de maio de 2013
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2334>

RESUMO: (Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:Culicidae)). Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito biocida de *Annona crassiflora*, *A. dioica*, *A. mucosa*, *A. coriacea* e *Cardiopetalum calophyllum* sobre larvas de *A. aegypti*. As concentrações testadas foram 1,0, 0,8, 0,6, 0,5, 0,2, 0,1 mg/mL, para extratos brutos e/ou frações de *A. crassiflora*, *A. dioica* e *C. calophyllum* e 0,1, 0,08, 0,05, 0,02 e 0,01 mg/mL, para os extratos brutos de *A. mucosa* e *A. coriacea*. Em cada solução foram adicionadas 20 larvas de 3º estágio de *A. aegypti* e a mortalidade larval foi registrada após 24 horas de exposição aos tratamentos e os dados submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias. A concentração letal (CL₅₀) foi determinada por Probit. *A. coriacea* em metanol e hexano e *A. mucosa* em metanol apresentaram 100% de mortalidade em 0,1 mg/mL. *A. crassiflora* apresentou mortalidade superior a 90% em 1,0 mg/mL, no extrato bruto metanólico, hexânico, diclorometano e na fração hexânica. As frações hidroalcoólica, acetato de etila e clorofórmio não apresentaram atividade inseticida. Nas espécies *A. dioica* e *C. calophyllum* com extrato bruto a mortalidade foi inferior a 50%. Portanto, *A. crassiflora*, *A. coriacea* e *A. mucosa* em metanol e hexano são promissoras no desenvolvimento de futuros biocidas, para o controle do vetor da dengue.

Palavras chave: Annonaceae, dengue, extrato, larvicida, solventes.

ABSTRACT: (Annonaceae cause mortality in *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)). This work aimed at to evaluate the effect biocidal of *Annona crassiflora*, *A. dioica*, *A. mucosa*, *A. coriacea* and *Cardiopetalum calophyllum* in different solvents on larvae of *A. aegypti* after 24 hours of exhibition, being the data submitted to the variance analysis and test of comparison of averages. The lethal concentration (LC₅₀) it was certain for Probit. *A. coriacea* in methanol and hexano and *A. mucosa* in methanol presented 100% of mortality in 0,1mg/mL, with LC50 0.007, 0.007 and 0.010, respectively. *A. crassiflora* presented superior mortality to 90% in 1.0 mg/mL, in the extract rude methanolic (CL₅₀ 0.100), hexane (LC₅₀ 0.507), dichloromethane (LC50 0.185) and in the fraction hexane (CL50 0.433). The fractions hidroalcoólica, etila acetate and chloroform didn't cause mortality. In the species *A. dioica* and *C. calophyllum* the mortality was subscript to 50%. Therefore, *A. crassiflora*, *A. coriacea* and *A. mucosa*, in the solvents methanol and hexane are promising species for the development of futures biocides in the combat to the dengue vector.

Key words: Annonaceae, dengue, extracts, larvicide, solvents.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença infecciosa, de origem viral, transmitida ao homem através do vetor *Aedes aegypti* (Augusto 2003) e constitui um sério problema de saúde pública no mundo (Barreto 2005). Tradicionalmente, o controle do vetor é realizado por aplicações excessivas de inseticidas sintéticos (Luna *et al.* 2004), ocasionando contaminação ambiental, alta toxicidade ao homem (Lima *et al.* 2003) e resistência (Dia *et al.* 2012, Li *et al.* 2007, Brengues *et al.* 2003, Schuler & Werck-Reichhart 2003).

A existência de vetores resistentes a um determinado produto químico ocorre devido a fatores genéticos, operacionais e uso indiscriminado de inseticidas químicos. Geralmente, são utilizados produtos que atuam no mesmo sítio de ação, favorecendo o estabelecimento de resistência a inseticidas (Barreto 2005).

Todos esses fatores alertam para a busca de formas alternativas para o controle dos insetos vetores e, neste contexto, os inseticidas botânicos apresentam-se como uma opção econômica e ecologicamente viável. Segundo Roel (2001), o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias, compostas da associação de vários princípios ativos, é um processo que ocorre muito lentamente, pois agem de diversas formas sobre os insetos, provocando repelência, inibição de oviposição e da alimentação, distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade.

Estudos apontam alguns representantes da família Annonaceae, que possuem em sua composição as acetogeninas, como sendo potencialmente promissoras no controle de vários grupos de insetos (Nascimento & Boaventura 2003), tais como *Annona crassiflora* (Lima 2005), *A. coriacea* (Moraes 2009), *A. muricata* (Parra-

1. Parte da dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Ambientais, Universidade do Estado de Mato Grosso.

2. Departamento de Ciências Biológicas, UNEMAT, MT 358, km 07, Jardim Aeroporto, Tangará da Serra, MT, Brasil.

3. Departamento de Agronomia, UNEMAT. Tangará da Serra, MT, Brasil.

4. Acadêmica de Ciências Biológicas, UNEMAT. Tangará da Serra, MT, Brasil.

5. Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais, Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT, Cuiabá, MT, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: marilzacosta@gmail.com

-Henaó *et al.* 2007), entre outros. Todavia, para extrair tais metabólitos com ação inseticida, é necessário considerar a natureza química dos compostos e, principalmente, a composição do solvente utilizado (Chirinos *et al.* 2007). Portanto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a bioatividade de *A. crassiflora*, *A. dioica*, *A. mucosa*, *A. coriacea* e *Cardiopetalum calophyllum*, em diferentes solventes, sobre larvas de *A. aegypti*.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia do Centro de Pesquisas, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambiental-CPEDA, da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), município de Tangará da Serra, MT. As colônias iniciais de *A. aegypti* foram obtidas a partir de ovos da Cepa PP Campos do Centro de Pesquisas René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, MG). A criação permaneceu em sala climatizada com temperatura média de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 54 ± 2 %.

Os adultos foram mantidos em gaiola telada (50x50x50 cm), contendo em seu interior um chumaço de algodão embebido em solução a base de mel (10%) e oferecidos a camundongos (*Mus musculus*) para o repasto sanguíneo das fêmeas. Para a postura, foi utilizado recipiente com água, contendo papel filtro e coberto por um cone de cartolina preta.

O papel filtro contendo ovos foi depositado em recipiente plástico com água e deixado em temperatura ambiente para eclosão. Após essa fase, as larvas foram mantidas nos recipientes plásticos com água e alimentadas com ração multivitaminada para peixes ornamentais (Goldfish®) até atingirem o estágio de pupa. Estas foram coletadas diariamente e postas em copos tipo âmbar com água cobertos com tecido *voil* até a emergência dos adultos que, em seguida, foram transferidos para a gaiola de criação.

Os frutos de *A. dioica* foram coletados em áreas de Cerrado na região de Tangará da Serra, MT, em 2007 e 2008. Os frutos de *A. crassiflora* e *C. calophyllum* foram coletados nas mesmas áreas no período de janeiro a abril de 2010. Os frutos de *A. mucosa* foram coletados em chácaras nas proximidades do município de Tangará da Serra e os frutos de *A. coriacea* no município de Bela Vista, MS. Os frutos foram despulpados e suas sementes levadas a estufa de fluxo de ar forçado a 40 °C para secagem e, posteriormente moída, resultando em pó de baixa granulométrica.

A extração em *A. crassiflora* e *A. coriacea* ocorreu no Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais (LPqPN) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), em duas etapas distintas destacadas a seguir.

A. crassiflora

Parte A: 2,5 kg de sementes moídas foram extraídas sete vezes com 4 litros de hexano à temperatura

ambiente e, posteriormente evaporada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obtendo assim o extrato bruto hexânico (EBHex). Posteriormente, a massa de sementes desengordurada com hexano foi extraída sete vezes com 3 L de metanol, seguindo o mesmo procedimento anterior, resultando no extrato

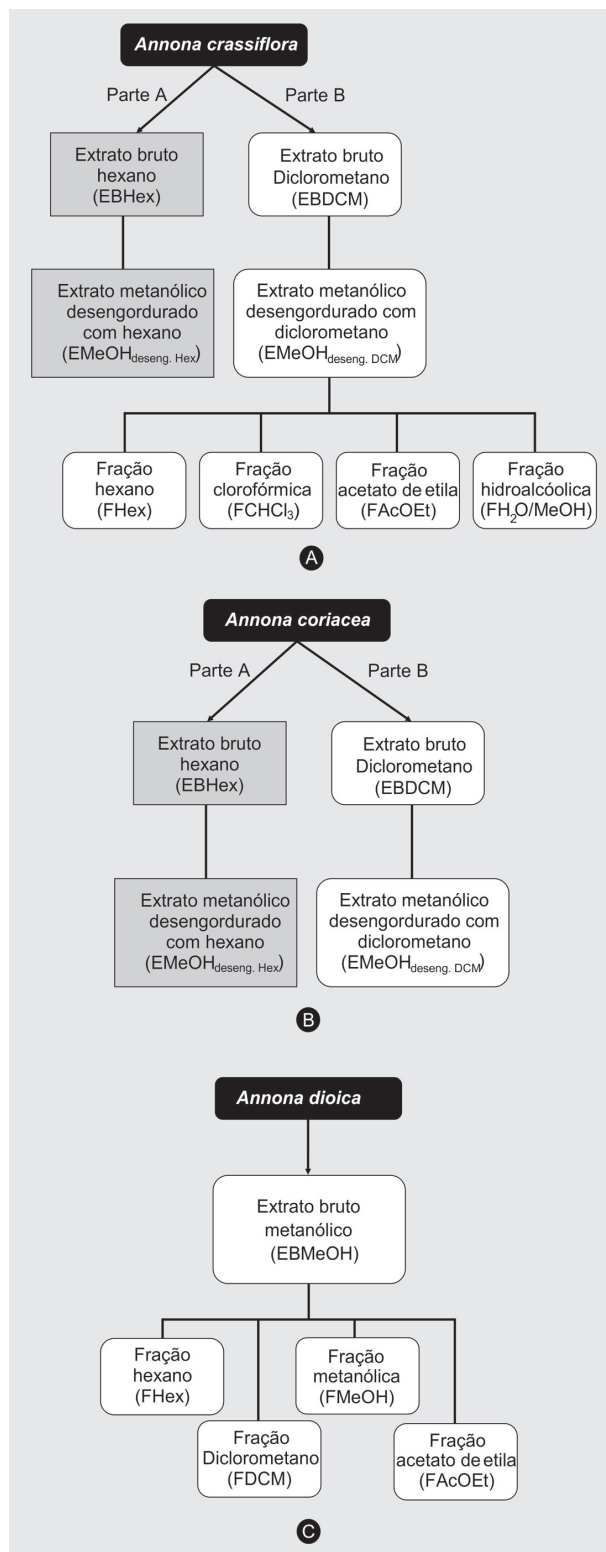


Figura 1. Extratos brutos e frações obtidos no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de Mato Grosso. A. *Annona crassiflora*. B. *Annona coriacea*. C. *Annona dioica*.

metanólico desengordurado com hexano (EMeOH_{Hex}^{deseng.}) (Fig. 1A).

Parte B: 2,5 kg de sementes moídas foram extraídas em quatro ciclos de sete dias com (5 L) diclorometano à temperatura ambiente e, posteriormente o extrato evaporado sob pressão reduzida em evaporador rotativo derivando o extrato bruto diclorometano (EBDCM). A massa de semente resultante do procedimento anterior foram submetidas a extração em quatro ciclos de sete dias com 6 L de metanol, seguindo o mesmo procedimento anterior e obteve-se o extrato metanólico desengordurado com diclorometano (EMeOH_{desg.DCM}) (Fig. 1A)

Para o preparo de frações de *A. crassiflora*, uma quantidade de 100 g de extrato bruto metanólico desengordurado com diclorometano (EMeOH_{desg.DCM}) foi submetido a partição líquido-líquido, utilizando solventes de polaridades crescentes, obtendo-se dessa forma as frações nomeadas como fração hexano (FHex), fração clorofórmica (FCHCl₃), fração acetato de etila (FAcOEt) e fração hidroalcoólica (FH₂O/MeOH) (Fig. 1A).

Parte A': 526 g de *A. coriacea* foram submetidas à extração a frio com 2 L de hexano (EBHex) e, em seguida submetida a extração a frio com 1,5 L de metanol (EMeOH_{desg.Hex}) (Fig. 1B).

Parte B': 674 g de sementes moídas de *A. coriacea* foram submetidas à extração a frio com 2 L de diclorometano (EBDCM) e, em seguida, submetida a extração a frio com 1,5 L de metanol (EMeOH_{desg.DCM}) (Fig. 1B).

A. dioica

Para a preparação dos extratos de *A. dioica*, 3,49 kg de sementes moídas foram submetidas a extração a frio com 6 L de metanol (EBMeOH) e, posteriormente, o extrato foi evaporado sob pressão reduzida em evaporador rotativo. Para o fracionamento de *A. dioica*, 300,0 g de EBMeOH foi incorporada a sílica gel 60 e submetido a uma coluna filtrante, utilizando solventes de polaridades crescentes, 3,0 L de hexano (Fração Hex), 3,0 L de diclorometano (Fração DCM), 3,0 L de acetato de etila (FAcOEt) e 3,4 L de metanol (Fração MeOH) (Fig. 1C).

A. mucosa e *C. calophyllum*

Os extratos de *A. mucosa* e *C. calophyllum* foram obtidos através da adição de 500 g do pó da semente de cada planta, acondicionados em recipientes de vidro, contendo 1.500 mL de solvente metanol. As suspensões (pó + solvente) foram submetidas ao processo de percolação, durante sete dias. Posteriormente, as suspensões obtidas foram filtradas e, em seguida, evaporadas utilizando evaporador rotativo a vácuo.

A partir dos extratos e frações, uma solução-mãe de cada extrato foi pré-solubilizada em Dimetilsulfóxido (DMSO 2%) ou Tween20 (2%) e dissolvida em água para obter a concentração de 1 mg/mL. A partir desta solução, uma série de diluições foi preparada para obtenção de soluções em concentrações decrescentes.

Para extratos brutos e/ou frações de *A. crassiflora*, *A.*

dioica e *C. calophyllum*, as concentrações testadas foram de 1,0, 0,8, 0,6, 0,5, 0,2, 0,1 mg/mL. Para os extratos brutos de *A. mucosa* e *A. coriacea*, as concentrações testadas foram de 0,1, 0,08, 0,05, 0,02 e 0,01 mg/mL.

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em quadruplicata, com 20 larvas de 3º estágio de *A. aegypti*, por repetição, seguindo a metodologia preconizada pela Organização Mundial da Saúde, com adaptações. Como controle foi utilizado o solubilizante DMSO (2%) ou Tween20(2%).

A variável avaliada foi a mortalidade larval após 24 horas de exposição aos tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) pelo programa SASM-Agri. Para determinação da concentração letal (CL₅₀) utilizou-se a análise de Probit pelo software livre R versão 2.7.1.

RESULTADOS

Os extratos bruto metanólico desengordurado com hexano e bruto hexânico de *A. coriacea* e o metanólico de *A. mucosa*, na concentração de 0,1mg/mL, apresentaram 100% de mortalidade, com CL₅₀ 0,007 mg/mL, 0,007 mg/mL e 0,010 mg/mL, respectivamente (Tab. 1). Já o extrato diclorometano de *A. coriacea* apresentou apenas 58,75% de mortalidade (CL₅₀ 0,805 mg/mL) e o extrato metanólico desengordurado com diclorometano não apresentou mortalidade larval (Tab. 1).

Na concentração de 1,0 mg/mL, apenas *A. crassiflora* apresentou mortalidade média superior a 90%, nos extratos brutos metanólico desengordurado com hexano (CL₅₀ 0,100 mg/mL), hexano (CL₅₀ 0,507 mg/mL), diclorometano (CL₅₀ 0,185mg/mL) e na fração hexano (CL₅₀ 0,433 mg/mL). O extrato metanólico desengordurado com DCM e as demais frações (hidroalcoólico, acetato de etila e clorofórmio) não apresentaram atividade inseticida (Tab. 1). Nas espécies *A. dioica* e *C. calophyllum*, a mortalidade foi inferior a 50%, independente do solvente utilizado (Tab. 1).

Em bioensaios com concentrações abaixo de 0,1 mg/mL de extratos de metanólico e hexânico de *A. coriacea*, constatou-se 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas com CL₅₀ 0,007 mg/mL (Tab. 2). Já para o extrato bruto metanólico de *A. mucosa*, a mortalidade de 100% das larvas só foi verificada na concentração de 0,8 mg/mL, com CL₅₀ 0,010 mg/mL, não diferindo da concentração 0,05mg/mL, com mortalidade de 95% das larvas testadas. As concentrações 0,02 e 0,01 mg/mL apresentaram mortalidade de 77,5 e 75,00%, respectivamente (Tab. 2).

O extrato metanólico de *A. crassiflora* apresentou 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas, não apresentando diferença estatística entre elas, ao nível de 5% de probabilidade (Tab. 3). O extrato diclorometano nas concentrações 1,0, 0,6 e 0,4 mg/mL não apresentaram diferença estatística entre si, com mortalidade acima de 90,00%, com exceção da concentração 0,8, que apresentou 88,75% de mortalidade. A concen-

Tabela 1. Atividade larvicida dos extratos de *Annona crassiflora*, *A. dioica*, *Cardiopetalum calophyllum*, *A. mucosa* e *A. coriacea* em diferentes solventes sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, em 24 horas de exposição.

Planta	Processamento	Solvente	Solubilizante (2%)	Concentração (mg/mL)	Mortalidade (%)	CL ₅₀ (mg/mL)
<i>Annona coriacea</i>	Bruto	Metanol (des. Hexano)	DMSO	0,1	100,00	0,007
		Hexano	Tween	0,1	100,00	0,007
		Diclorometano	Tween	0,1	58,75	0,805
<i>Annona mucosa</i>	Bruto	Metanol (des. DCM)	DMSO	0,1	0	-
		Metanol	DMSO	0,1	100,00	0,010
		Metanol (des. Hexano)	DMSO	1,0	100,00	0,100
<i>Annona crassiflora</i>	Bruto	Hexano	Tween	1,0	93,75	0,507
		Diclorometano	Tween	1,0	97,50	0,185
		Metanol (des. DCM)	DMSO	1,0	0	-
	Fração	Hexano	Tween	1,0	91,25	0,433
		Hidroalcóolica	Água	1,0	0,0	-
		Acetato de etila	Metanol	1,0	0,0	-
		Clorofórmio	DMSO	1,0	0,0	-
<i>Annona dioica</i>	Bruto	Metanol	DMSO	1,0	11,25	3,189
		Hexano	Tween	1,0	38,75	1,231
		Diclorometano	Tween	1,0	10,00	2,447
<i>Cardiopetalum calophyllum</i>	Bruto	Metanol	DMSO	1,0	3,75	5,196
		Metanol	DMSO	1,0	5,00	1,789

tração 0,2 mg/mL apresentou 80% de mortalidade e diferiu estatisticamente das demais concentrações e do controle (Tab. 3).

Com o extrato hexânico de *A. crassiflora*, apenas a concentração de 1,0 mg/mL obteve mortalidade superior a 90%. Porém, não diferiu estatisticamente da concentração de 0,8 mg/mL. As concentrações 0,6 e 0,4 mg/mL apresentaram mortalidade acima de 50%, não diferindo estatisticamente entre si. A concentração de 0,2 mg/mL não diferiu do controle ao nível de 5% de probabilidade (Tab. 3).

DISCUSSÃO

A família Annonaceae ocorre amplamente em todo território brasileiro e o interesse de estudos nesta família é devido ao isolamento de uma classe de substâncias naturais bioativas, conhecidas como “acetogeninas de anonáceas” que apresentaram uma gama de importantes atividades biológicas, dentre elas a inseticida (Nascimento & Boaventura 2003). Além das acetogeninas, espécies desta família apresentam ainda outros compostos secundários como taninos, alcalóides e lectina

(Silva 2010, Coelho 2006), que são substâncias também com habilidades bastante tóxica a insetos.

Porém, de acordo com Shaalan *et al.* (2005), a bioatividade desses fitoquímicos podem variar significativamente dependendo da espécie, bem como do solvente usado na extração.

Os resultados da ação larvicida, observados em *A. mucosa* e *A. coriacea*, não diferiram com relação aos solventes utilizados (Tab. 2). com baixos valores de CL₅₀ e igualmente ativos no solvente hexânico (CL₅₀ 0,007) e metanol (CL₅₀ 0,007), em *A. coriacea*, e em metanol, para *A. mucosa* (CL₅₀ 0,010). Em *A. coriacea*, valores inferiores de CL₅₀ (0,003 mg/mL) foram encontrados por Moraes (2009), indicando o potencial inseticida desta espécie. Já para *A. mucosa*, não há na literatura ou trabalhos que demonstrem sua ação sobre larvas de *A. aegypti* e, por isso, os resultados obtidos indicam o potencial desta espécie no controle do vetor da dengue, uma vez que apresentou resultado acima dos observados por Feitosa *et al.* (2009) com *Annona leptopetala* (i.e. *Rollinia leptopetala*) (CL₅₀ 0,064 mg/mL) e de Parra-Hennao *et al.* (2007) em *A. muricata* (CL₅₀ 0,02 mg/mL).

Tabela 2. Comparação entre as porcentagens de mortalidade de larvas de 3º instar de *Aedes aegypti* submetidas a diferentes concentrações do extrato bruto metanólicos de sementes de *Annona mucosa* e extrato bruto metanólico e hexano de *A. coriacea* pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Concentração (mg/mL)	Mortalidade larval					
	<i>A. coriacea</i> (Metanol)		<i>A. coriacea</i> (Hexano)		<i>A. mucosa</i> (Metanol)	
	n (\bar{x})	%	n (\bar{x})	%	n (\bar{x})	%
0,08	20 a	100	20 a	100	19,75 a	98,75
0,05	20 a	100	20 a	100	19,00 ab	95,00
0,02	20 a	100	20 a	100	15,50 b	77,50
0,01	20 a	100	20 a	100	15,00 b	75,00
Controle	0 b	0	0 b	0	0 c	0
CL ₅₀ (mg/mL)	CL ₅₀ 0,007		CL ₅₀ 0,007		CL ₅₀ 0,010	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Comparação entre as porcentagens de mortalidade de larvas de 3º instar de *Aedes aegypti* submetidas a extratos de *Annona crassiflora* em diferentes solventes e concentrações.

Concentração (mg/mL)	Mortalidade larval					
	Metanol		Diclorometano		Hexano	
	n (\bar{x})	%	n (\bar{x})	%	n (\bar{x})	%
1	20 a	100	19,50 a	97,5	18,75 a	93,75
0,8	20 a	100	17,75 b	88,75	14,75 ab	73,75
0,6	20 a	100	18,00 ab	90,0	11,50 b	57,50
0,4	20 a	100	19,25 ab	96,25	11,00 b	55,00
0,2	20 a	100	16,00 c	80	3,75 c	18,75
Controle	0 b	0	0 d	0	0 c	0
CL ₅₀ (mg/mL)	CL ₅₀ 0,100		CL ₅₀ 0,185		CL ₅₀ 0,507	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

A eficiência destas espécies na mortalidade de larvas de *A. aegypti* deve-se certamente as acetogeninas que lhes conferem grande potencial inseticida. Em *A. mucosa* as moléculas bioativas como inseticidas são as rollidecin C (1) e rollidecin D (2) isoladas em extratos metanólicos (Gu *et al.* 1997). *A. coriacea* também apresenta em sua composição acetogeninas que, segundo Meneses da Silva *et al.* (1996), lhe confere grande potencial citotóxico. Há ainda nesta espécie descrições da ocorrência de taninos, alcalóides e lectina (Silva 2010, Coelho 2006) que são substâncias com habilidades bastante tóxica a insetos, entre eles o *A. aegypti*.

Diferente dos resultados observados para *A. mucosa* e *A. coriacea* a espécie *A. crassiflora* apresentou diferença de mortalidade quanto ao solvente utilizado. O extrato metanólico apresentou maior efeito tóxico sobre larvas de *A. aegypti* na menor concentração, quando comparada com os demais solventes (Tab. 3). Esta ocorrência deve-se principalmente ao fato do metanol apresentar alta polaridade o que estaria favorecendo a separação das moléculas bioativas, pois segundo Alali *et al.* (1999), embora as acetogeninas sejam facilmente extraídas pela maioria dos solventes orgânicos, a separação das moléculas depende da sua polaridade.

Vários autores descrevem os mais variados solventes na extração das acetogeninas: água (Pérez-Pacheco *et al.* 2004), etanol (Bobadilla *et al.* 2002, Bobadilla *et al.* 2005), acetona (Khalequzaman & Sultana 2006), clorofórmio (Parvin *et al.* 2003), éter (Alvarez *et al.* 2008), hexano (Fontana *et al.* 1998) e metanol (Das *et al.* 2007). Esses solventes são utilizados a partir do pressuposto que as acetogeninas podem variar de muito polar, tal como aqueles extraídos pela água, álcool etílico e metanol a não polares como os extraídas pelo hexano (Bobadilla *et al.* 2005).

Contudo na literatura poucos são os trabalhos que indicam o metanol como solvente na extração desses compostos, no entanto, por este conferir alta polaridade, há grande possibilidade de ser indicado para a extração dos princípios ativos de *A. crassiflora*, como demonstrado nesta pesquisa.

Quando se compara os solventes metanol (CL₅₀ 0,100 mg/mL), diclorometano (CL₅₀ 0,185 mg/mL) e hexano

(CL₅₀ 0,507 mg/mL), verifica-se que, para a utilização deste último em *A. crassiflora*, são necessárias altas concentrações para obter resultados de mortalidade aceitáveis (Tab. 3). Esses resultados foram superiores aos encontrados por Lima (2005), para essa mesma espécie, com CL₅₀ 0,033 mg/mL, porém inferior ao encontrado em *A. muricata* (CL₅₀ 0,9 mg/mL) (Parra-Henao *et al.* 2007).

Observou-se que os extratos de *A. coriacea*, *A. mucosa* e o metanólico de *A. crassiflora* apresentaram baixo valor de CL₅₀ e de acordo com Moreira *et al.* (2010) quanto menor a concentração letal, melhores são as condições de uso do extrato no meio ambiente, já que o impacto causado por este é reduzido e uma menor quantidade de material é consumida.

Os extratos brutos de *A. crassiflora* apresentaram mortalidade maior que os extratos fracionados (Tab. 1), não corroborando com os resultados obtidos por Lima (2005) que atingiu 100% de mortalidade larval na fração clorofórmio, 95% na hexânica e 15% na acetato de etila. Além disso, a autora conclui que a fração clorofórmio foi a responsável pela atividade inseticida desta espécie sobre *A. aegypti*, devido maior concentração de acetogeninas. Diferente dos resultados obtidos nesta pesquisa, em que foi observado 0% de mortalidade larval nesta fração.

De acordo com Aslan *et al.* (2006), as frações hexano e clorofórmio apresentam compostos com baixa polaridade e em algumas espécies vegetais a maior concentração de compostos com atividade inseticida encontra-se principalmente nas frações de menor polaridade (Braga *et al.* 2006). Consequentemente, as frações polares apresentam pouca eficiência (Mata 2007). Porém, Zeng *et al.* (1996) afirmam que, dentre os solventes orgânicos, as acetogeninas são mais solúveis em clorofórmio e diclorometano.

Ao contrário dos autores acima, Morales *et al.* (2004) testaram extratos polares (etanol) e não polares (éter de petróleo) de sementes de *A. muricata* e não observaram diferença de mortalidade em larvas de *A. aegypti* entre os extratos, obtendo 100% de mortalidade na concentração de 1,8 mg/mL para ambos. Porém, quando testaram a mescla entre os dois extratos (polar + não polar),

obtiveram a mesma mortalidade em concentrações de 0,75 mg/mL, indicando um possível sinergismo entre os extratos.

Acredita-se que a mortalidade larval nesta pesquisa tenha ocorrido devido a união dos compostos fitoquímicos presentes em *A. crassiflora*, tendo em vista que o extrato bruto apresentou maior eficiência em comparação a porção fracionada, indicando um possível sinergismo entre os componentes fitoquímicos da espécie.

Em suma, os dados desta pesquisa demonstraram que a bioatividade de fitoquímicos de anonáceas sobre larvas de *A. aegypti* pode variar significativamente dependendo da espécie, bem como do solvente e as concentrações utilizadas. Desta forma, as espécies *A. crassiflora*, *A. coriacea* e *A. mucosa* apresentaram alta atividade larvicida, indicando que podem ser consideradas promissoras no controle de larvas de *A. aegypti*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PPSUS e FAPEMAT, pelo suporte financeiro; à CAPES, pela concessão da bolsa de apoio; ao Centro de Pesquisas René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, MG), pelo fornecimento dos insetos e pelas orientações iniciais da criação.

REFERÊNCIAS

- ALALI, F. Q., LIU, X. X. & MCLAUGHLIN, J. L. 1999. Annonaceous Acetogenins: recent progress. *Journal of Natural Products*, 62(1): 504-540.
- ÁLVAREZ, O., BARRACHINA, I., GONZALES MAS, C. M., MOUA SANZ, P., NESKE, A. & BARDON, A. 2008. Toxic effects annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. *Journal of Pest Science*, 81(2): 85-89.
- ASLAN, I., KILIÇ, T., GÖREN, A. C. & TOPÇU, G. 2006. Toxicity of acetone extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandiciol, 7-epicandiciol diacetate and 18-acetylsideroxol against stored pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell.). *Industrial Crops and Products*, 23(2): 171-176.
- AUGUSTO, L. G. S. 2003. Saúde e Vigilância Ambiental: um tema em construção. *Revista do Sistema Único de Saúde*, 12(4): 177-187.
- BARRETO, C. F. 2005. *Aedes aegypti* - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. *Revista Eletrônica da Faculdade de Montes Belos*, 1(2): 62-73.
- BOBADILLA, A. M., ZAVALA, F., SISNIEGAS, M., ZAVALA, G., MOSTACERO, J. & TARAMONA, L. 2005. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). *Revista Peruana de Biología*, 12(1): 145-152.
- BRAGA, P.A.C., SOARES, M.S., DA SILVA M. F. G. F., VIEIRA, P. C., FERNANDES, J. B. & PINHEIRO, A. L. 2006. Dammarane triterpenes from *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae): their chemosystematic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(4): 282-290.
- BRENGUES, C., HAWKES, N. J., CHANDRE, F., MCCARROLL, L., DUCHON, S., GUILLET, P., MANGUIN, S., MORGAN, J. C. & HEMINGWAY, J. 2003. Pyrethroid and DDT crossresistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Medical and Veterinary Entomology*, 17(1): 87-94.
- CHIRINOS, R., HERVÉ, R., CAMPOS, D., PEDRESCHI, R. & LARONDELLE, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2): 217-225.
- COELHO, M. B. 2006. *Estudo da Atividade inseticida e Pró-inflamatória da Lectina Isolada de Sementes de Annona coriacea* Mart. 107 f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- DAS, N. G., GOSWAMI, D. & RABHA, B. 2007. Preliminary Evaluation of Mosquito Larvicidal Efficacy of Plant Extracts. *Journal Vector Borne Diseases*, 44(2): 145.
- DIA, I., DIAGNE, C. T., BA, Y., DIALLO, D., KANOTE, L. & DIALLO, M. 2012. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* populations from Senegal and Cape Verde Archipelago. *Parasites & Vectors*, 5(1): 238.
- FEITOSA, E. M. A., ARRIAGA, A. M. C., SANTIAGO, G. M. P., LEMOS, T. L. G., OLIVEIRA, M. C. F., VASCONCELOS, J. N., LIMA, J. Q., MALCHER, G. T., NASCIMENTO, R. F. & BRAZ-FILHO, R. 2009. Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(2): 375-378.
- FONTANA, J. D., LANÇAS, F. M., PASSOS, M., CAPPELARO, E., VILEGAS, J., BARON, M., NOSEDA, M., POMÍLIO, A. B., VITALE, A. & WEBBER, A. C. 1998. Selective Polarity- and adsorption- guided extraction/purification of *Annona* sp. polar acetogenins and biological assay against agricultural pests. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 70(19): 67-76.
- GU, Z., ZHOU, D., LEWIS, N. J., WU, J., SHI, G. & MCLAUGHLIN, J. L. 1997. Isolation of new bioactive Annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa* guided by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 5(10): 1911-1916.
- KHALEQUZZAMAN, M. & SULTANA, S. 2006. Insecticidal activity of *Annona squamosa* L. seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of BioScience*, 14(1): 107-112.
- LI, X., SCHULER, M. A. & BERENBAUM, M. R. 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52(1): 231-253.
- LIMA, M. R. F. 2005. *Contribuição para o conhecimento fitoquímico e da atividade biológica de Annona crassiflora* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi. 202 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2005.
- LIMA, J. B. P., CUNHA, M. P., SILVA JUNIOR, R. C., GALARDO, A. K. R., SOARES, S. S., BRAGA, I. A., RAMOS, R. P. & VALLE, D. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68(3): 329-33.
- LUNA, J. E. D., MARTINS, M. F., ANJOS, A. F., KUWABARA, E. F. & NAVARRO-SILVA, M. A. 2004. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina. *Revista de Saúde Pública*, 38(6): 842-843.
- MATA, R. F. F. R. 2007. *Efeito do extrato aquoso de Cabralea canjerana subsp. polytricha* (Adr.Juss) Penn. (Meliaceae) no controle biológico de *Brevycorine brassicae* (L.) (Hemiptera: Haphididae) e *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae). 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.
- MENESES DA SILVA, E. L., ROBLLOT, F., MAHUTEAU, J. & CAVÉ, A. 1996. Coriadienin, the first annonaceous acetogenin with two double bonds isolated from *Annona coriacea*. *Journal of Natural Products*, 59(5): 528-30.
- MORAES, J. M. 2009. *Bioatividade de extratos de Annonaceae sobre Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, 2009.

- MORALES, C. A., GONZALES, R. O. & ARAGON, R. 2004. Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 30(2): 187-192.
- MOREIRA, C. P. S., ZANI, C. L. & ALVES, T. M. A. 2010. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 7(3): 6-27.
- NASCIMENTO, F. C., BOAVENTURA, M. A. D., ASSUNÇÃO, A. C. S. & PIMENTA, L. P. S. 2003. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. *Química Nova*, 26(3): 319-322.
- PARRA-HENAO, G., GARCIA PAJÓN, C. M. & COTES TORRES, J. M. 2007. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 47(1): 125-137.
- PARVIN, S., ISLAM, E., RAHMAN, M. & HAQUE, E. 2003. Pesticidal activity of Pure Compound Annotemoyin-1 Isolated from chloroform extract of the plant *Annona squamosa* Linn. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Biological Sciences*, 6(12): 1088-1091.
- PÉREZ-PACHECO, R., HERNÁNDEZ, C. R., REYANA, J. L., BELMONT, R. M. & VALVERDE, G. R. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 20(1): 141-152.
- ROEL, A. R. 2001. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*, 1(1): 43-50.
- SCHULER, M. A. & WERCK-REICHHART, D. 2003. Functional genomics of P450s. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1): 629-667.
- SHAALAN, E. A. S., CANYON, D., YOUNES, M. W. F., ABDEL-WAHAB, H. & MANSOUR, A. H. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*, 31: 1149-1166.
- SILVA, N. L. A. 2010. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. *Scientia Plena*, 6(2): 1-17.
- ZENG, L., YE, Q., OBERLIES, N. H., SHI, G., GU, Z. M., HE, K. & MCLAUGHLIN, J. L. 1996. Recent Advances in Annonaceous Acetogenins. *Natural Product Reports*, 13(2): 275-306.