

A UTILIZAÇÃO DE SEMENTES DA FAMÍLIA ANNONACEAE COM FINALIDADE BIOLARVICIDA CONTRA O *Aedes aegypti*

THE USE OF SEEDS FROM THE ANNONACEAE FAMILY FOR BIOLARVICIDAL PURPOSE AGAINST *Aedes aegypti*

Mardônio Junior de Souza ¹
Arthur Monteiro da Silva ²
Ana Caroline Castro de Morais ³
Ítalo Sousa Nogueira ³
Maria Yanna Monteiro da Silva ³

RESUMO:

Estudos na busca de novas substâncias de origem vegetal como um método alternativo no controle do mosquito vetor da dengue, *Aedes aegypti*, vêm sendo realizados nos últimos anos. Dentre estes, destacam-se pesquisas com as plantas da família *Annonaceae*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial larvicida das espécies *Annona muricata*, *Annona squamosa* e a *Annona glabra* contra o mosquito *Aedes aegypti*. A atividade larvicida foi investigada a partir da exposição de larvas aos diferentes extratos das variadas sementes. Foram feitas observações em diferentes períodos de exposição, contabilizando as larvas mortas. Os ensaios apresentaram uma alta mortalidade das larvas. O ensaio IV que continha o extrato das três sementes, conseguiu 100% de letalidade, após 2 h. de observação. O ensaio I que continha sementes da espécie *Annona muricata*, obteve 100% de letalidade no período 4 h. de observação e o ensaio II e III que continham as sementes de *Annona squamosa* e *Annona glabra*, após o período de 6 h obteve 100% de mortalidade das larvas. *Annona glabra*. Verificou-se uma efetividade promissora dos ensaios, possuindo estas um potencial larvicida que deve ser estudado de forma mais aprofundada para se aderir ao mercado e ajudar no combate às doenças causadas pelo mosquito *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: *Aedes Aegypti*. Acetogeninas. Biolarvicida. *Annonaceae*.

ABSTRACT:

Studies in the search for new substances of plant origin as an alternative method in the control of the dengue vector mosquito, Aedes aegypti, have been conducted in recent years. Among these, research with plants of the Annonaceae family stand out. The objective of this study was to evaluate the larvicidal potential of Annona muricata, Annona squamosa and Annona glabra species against the Aedes aegypti mosquito. The larvicidal activity was investigated by exposing larvae to different extracts of the various seeds. Observations were made at different exposure periods, counting the dead larvae. The assays showed a high mortality of the larvae. The test IV containing the extract of the three seeds achieved 100% lethality after 2h of observation. Test I containing Annona muricata seeds obtained 100% mortality after 4h of observation and tests II and III containing Annona squamosa and Annona glabra seeds obtained 100% mortality of larvae after 6h. Annona glabra. A promising effectiveness of the tests was verified, and these seeds have a larvicidal potential that should be further studied in order to join the market and help combat diseases caused by the Aedes aegypti mosquito.

Keywords: *Aedes Aegypti*. Acetogenins. Biolarvicide. *Annonaceae*.

1. Graduado em Química (UECE). Professor da EEEP Pedro de Queiroz Lima.

2. Mestre em Economia (UFC). Coordenador Pedagógico da EEEP Pedro de Queiroz Lima.

3. Estudante do Ensino Médio da EEEP Pedro de Queiroz Lima.

1. INTRODUÇÃO

Os mosquitos são vetores de arboviroses, que podem gerar sérias epidemias, as quais constituem um grande problema de saúde pública. Dentre estes, podemos citar o *Aedes aegypti*, transmissor de doenças como dengue, chikungunya, febre amarela e zika vírus (SANTHOSH; YUVARAJAN e NATARAJAN, 2015). Segundo o site Agência Brasil, em 2022 (de janeiro a abril), o Brasil registrou um aumento de 113% nos casos de dengue, sendo a região centro-oeste do país, a que mais registrou incidência no número de casos. Com relação a Chikungunya, o aumento foi de 40%, tendo a região nordeste como a mais afetada. Já para a Zika, o registro foi de 53,9% de aumento no número de casos e de febre amarela 2,3%. Dessa forma, cabe ressaltar que o aumento desses números alerta para o cuidado e prevenção das formas de contaminação (AGÊNCIA BRASIL, 2022). A prevenção dessas doenças é alcançada principalmente através do controle populacional de mosquitos (WHO, 2009).

A forma mais usual de controle é através da eliminação dos criadouros do mosquito. Outra forma é através do uso de inseticidas químicos como piretróides e organofosforados, utilizados para reduzir a densidade da população de mosquitos adultos e no controle das larvas nos criadouros. O que se percebe é que a utilização recorrente desses agentes tornou os mosquitos mais resistente, necessitando cada vez mais de doses maiores para controlar o vetor. Além disso, a utilização contínua desses agentes provoca a contaminação do solo, da água, do ar e redução da biodiversidade (EZEMUOKA *et al.*).

Dessa forma, pesquisadores buscam alternativas biodegradáveis que sejam capazes de controlar o vetor e diminuir a incidência dessas doenças, sem os efeitos negativos observados. A solução para esses problemas decorrentes depende da busca de compostos novos e eficazes que sejam facilmente degradáveis, ecológicos e que não tenham quaisquer efeitos adverso sobre populações não-alvo, produtos facilmente disponíveis, seguros e de baixo custo. Com isto, a investigação de potenciais larvicidas de origem vegetal tem recebido grande destaque, devido as propriedades inseticidas, larvicidas e ovicidas presentes em algumas espécies (MARQUES; KAPLAN, 2015).

Pesquisas já evidenciam propriedades inseticidas, repelentes e larvicidas em algumas espécies de plantas, além de propriedades farmacológicas de grande interesse. Dentre as diferentes plantas investigadas como potenciais biolarvicidas, destacam-se espécies pertencentes a família *Annonaceae*, como a *Annona muricata*, *Annona squamosa*, *Annona glabra*, conhecidas popularmente como graviola, ata (fruta do conde) e araticum, respectivamente. Neste sentido este trabalho se propõe a avaliar atividade larvicida de algumas espécies da família *Annonaceae* frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Annonaceae é uma das maiores famílias da Ordem *Magnoliales* e entre as Angiospermas, com cerca de 135 gêneros e 2.500 espécies, com distribuição pantropical, constando de árvores, arbustos e lianas (PONTES *et al.*). Amplamente encontrada no Brasil, com registro de 26 gêneros e cerca de 260 espécies distribuídas nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (MAAS *et al.*). Engloba uma grande variedade de frutos comestíveis que possuem intensa semelhança entre si (ALMEIDA *et al.*).

Por apresentar uma grande variedade de constituintes químicos pertencentes a vários grupos fitoquímicos a família apresenta grande destaque. Dentre estes constituintes, podemos destacar as amidas, terpenos, esteroides, taninos, flavonoides, óleos voláteis, resinas, ligninas, principalmente alcaloides e acetogeninas (SIQUEIRA *et al.*). Os maiores gêneros da família são *Guatteria* [250 sp], *Uvaria* [175 sp], *Xylopia* [160 sp], *Polyalthia* [150 sp] e *Annona* considerado o mais importante com cerca de 150 espécies (NASCIMENTO, 2008).

O gênero *Annona* possui ampla distribuição em países tropicais estendendo-se desde o norte do México, sul da Flórida, ilhas do Caribe, África tropical, oeste da Índia, Madagascar, com maior concentração no continente americano, ocorrendo praticamente em todo o Brasil [MAAS *et al.*].

Diversas espécies desse gênero são utilizadas na medicina popular no tratamento de diabetes, febre, doenças dos olhos, estômago e intestino, aftas, dermatoses e outras doenças de pele de crianças e animais, irritações, malária, úlcera péptica, cólicas, diarreias, doenças venéreas, furúnculos, ulcerações, para induzir a supuração, como vermífugo, inseticida, abortivo e em acidentes ofídicos. Ainda são atribuídas a estas as propriedades adstringentes, antidiarreicas, antitumoral, esterilizante, reumática, anti-helmíntica, parasiticida, carminativas, entre outras [SHIRWAIKAR *et al.*].

O gênero *Annona* pertencente à família *Annonaceae* vem chamando atenção devido ao potencial como agente larvicida. Neste gênero, destacam-se principalmente a *Annona muricata* [graviola] e *Annona squamosa* [pinha] [PAES *et al.*]. Pesquisas demonstram efeito sinérgico e diminuição da CL50, com a combinação de extratos dessas plantas [DIAS; MORAES, 2014].

As principais substâncias encontradas no gênero *Annona* são alcaloides, esteroides, terpenos flavonoides e acetogeninas [SIQUEIRA *et al.*]. As acetogeninas são os compostos bioativos principais e de maior interesse, presentes em todas as partes da planta e concentradas principalmente nas sementes [AVULA *et al.*]. A família *Annonaceae* é a única a apresentar as acetogeninas em seu conjunto fitoquímico, principalmente o gênero *Annona* [CHENG-YAO *et al.*].

Investigações demonstraram que os extratos contendo acetogeninas inibem o desenvolvimento das larvas de *A. aegypti*, *Anopheles albimanus* e *Leptinotarsa decemlineata* [besouro-da-batata], além de inibirem o desenvolvimento das ninfas de *Blattella germanica*, *Rhodnius prolixus* e *Rhodnius pallescens* e insetos que afetam as plantas, como *Plutella Xylostella*. [PANDEY *et al.*]. Na literatura, diversos trabalhos avaliaram a atividade larvicida de diferentes extratos da planta frente ao *Aedes aegypti*.

3. METODOLOGIA

As sementes das espécies *Annona muricata* [graviola], *Annona squamosa* [pinha] e a *Annona glabra* [araticum] foram coletadas no entorno da EEEP Pedro de Queiroz Lima, Beberibe, Ceará, durante o mês de maio de 2022. Todo o material recolhido foi conduzido ao Laboratório Escolar.

A partir das sementes realizou-se o processo trituração, pesagem e experimentação cuja extração foi à quente e a frio, obtendo êxito com a decocção. Foram realizados 4 ensaios amostrais: I-1,5g de *Annona muricata* [graviola]; II-1,5g *Annona squamosa* [pinha], III-1,5g *Annona glabra* [araticum]., e IV-1,5g das 3 sementes. Todos os ensaios amostrais passaram pelo processo de decocção, em um volume de 100mL de água quente, por um período de 30 minutos.

Para os ensaios biológicos do potencial larvicida, as larvas foram coletadas ao entorno da escola e foi aplicado uma armadilha do tipo ovitrampas na escola e deixadas em campo por cinco dias. Após este período de exposição, as ovitrampas foram recolhidas e levadas para o Laboratório de Química da EEEP Pedro de Queiroz Lima. As paletas foram analisadas para o registro ou ausência de ovos. As paletas que continham ovos foram imersas em água, para a eclosão destes; para auxiliar no processo de crescimento das larvas, adicionou-se 0,3g de ração *Purina Cat Chow*. Após a eclosão, as larvas foram observadas durante 4 a 5 dias até atingirem o 3º estágio de desenvolvimento.

Para a realização do bioensaio da atividade larvicida foram adicionados em tubo de ensaio as 4 soluções dos biolarvicidas produzidos [I-*Annona muricata*; II-*Annona squamosa*, III-*Annona glabra*, e IV-mistura das 3 sementes.]. As larvas foram separadas com o auxílio da pipeta de Pasteur e colocadas em papel de filtro para a remoção do excesso de água e posteriormente, distribuíram-se 10 larvas em cada tubo de ensaio contendo 30 ml das diluições.

Figura 1 – Sementes trituradas



Fonte: próprio autor, 2022.

Figura 2 – Extrato das sementes.



Fonte: próprio autor, 2022.

Figura 3 – Utilização do biolarvicida.



Fonte: próprio autor, 2022.

As observações foram realizadas nos períodos de 2h, 4h, 6h, 8h e 12h de exposição das larvas as diferentes soluções. Em cada período de exposição, observou-se o número de larvas mortas, sendo consideradas também, aquelas que não apresentavam movimento ou não respondiam aos estímulos com a pipeta de Pasteur. A temperatura ambiente variou entre 27°C e 30°C.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, os dados desta pesquisa demonstraram que a biotividade de fitoquímicos das sementes de *Annonaceae* sobre as larvas de *Aedes Aegypti*, pode variar significativamente a depender das espécies de *Annonaceae* utilizada, entretanto, todas elas demonstraram alguma eficiência biolarvicida. Acredita-se que este fator se deve a presença das acetogeninas presentes nas sementes.

Os resultados mostraram-se promissores quanto a utilização do extrato das sementes, havendo a partir da 6ª hora de observação e para todas as espécies de *Annonaceae* utilizadas, a mortalidade de 100% das larvas e mosquitos. Assim, atesta-se o grande potencial desta família, no combate ao *Aedes aegypti*. Entretanto, há que se mencionar a necessidade de maiores estudos e por consequente, melhoramento do enfoque pesquisado, haja vista ser uma necessidade de saúde pública o combate as doenças transmitidas por este vetor. Também deve ser ressaltado que se trata de uma alternativa acessível financeiramente e completamente natural, sem a utilização de compostos químicos sintetizados em laboratório, assim não oferecendo risco a saúde dos animais, além de contribuir com a não poluição ambiental. Considera-se, portanto, que a utilização dos extratos das sementes das *Annonaceae* podem ser potenciais aliados no combate a doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*, contribuindo assim, para a melhoria da qualidade vida dos seres humanos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis.; Distrito Federal: Editora da Embrapa, 1ª ed, 1998a.

AVULA, B.; BAE, J.; MAJRASHI, T.; WU, T.; WANG, Y.; WANG, M.; ALI, Z.; WU, Y.; KHAN, I. A. Targeted and non-targeted analysis of annonaceous alkaloids and acetogenins from Asimina and Annona species using UHPLC-QToF-MS. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, n. 159, p. 548-566, september, 2018.

CHENG-YAO, M.; JIA-HUI, L.; XIANG, L.; XIAO, L.; JIAN-WEI, C. Eight new cytotoxic annonaceous acetogenins from the seeds of Annona squamosa. **Chin. J. Nat. Med.**, v. 17, n. 4, p. 291-297, 2019.

DENGUE Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. WHO Publications, Geneva, Switzerland, 2009. Disponível em ScienceDirect. Acesso em 24 fev. 2022.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera:Culicidae) larvicides: **Review. J. Parasitol. Res.**, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

EZEMUOKA, L.; NWANKWO, E.; OGBONNA, C. U.; OKONKWO, N. Toxicity of the aqueous leaf and Stem-bark extracts of *Annona muricata* to the 4th instar larvae of *Aedes aegypti*. **J. Entomol. Zool. Stud.**, p. 1047-1052, 2019.

HARI, Irrusappan; MATHEW, Nisha. **Larvicidal activity of selected plant extracts and their combination against the mosquito vectors *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti***. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323273348_Larvicidal_activity_of_selected_plant_extracts_and_their_

combination_against_the_mosquito_vectors_Culex_quinquefasciatus_and_Aedes_aegypti. Acesso em: 24 fev. 2022.

MAAS, P., RAINER, H.; LOBÃO, A. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

MARQUES, A. M.; KAPLAN, M. A. C. Active metabolites of the genus Piper against Aedes aegypti: Natural alternative sources for dengue vector control. **J. Univ. Sci.**, v. 20, n. 1, p. 61–82, 2015.

NASCIMENTO, M. C. S. do. **Constituintes bioorgânicos isolados de Annona cacans Warming (Annonaceae) e avaliações de bioatividades**. Seropédica, Programa de Pós-Graduação em Química, UFRJ, 2008. Tese de doutorado.

PAES, M. M.; VEGA, M. R. G.; CORTES, D.; MILTON, M. Potencial Citotóxico das Acetogeninas do Gênero Annona. **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, n. 3, p. 945–980, 2016.

PANDEY, S.; NANDA, S.; VUTHA, A.; NARESH, R. Modeling the impact of biolarvicides on malaria transmission. **J. Theor. Biol.**, v. 454, p. 396–409, 2018.

PONTES, A. F.; BARBOSA, M. R. de V.; MAAS, P. J. M. Flora Paraibana: **Annonaceae Juss. Acta Botanica Brasílica**, v. 18, n. 2, p. 281–293. 2004.

SANTHOSH, S.; YUVARAJAN, R.; NATARAJAN, D. Annona muricata leaf extract-mediated silver nanoparticles synthesis and its larvicidal potential against dengue, malaria and filariasis vector. **J. Parasitol. Res.**, v. 114, n. 8, p. 3087–3096, 2015.

SHIRWAIKAR, A.; RAJENDRAN, K.; KUMAR, C. D.; BODIA, R. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of Annona squamosa in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 171–175, 2004.

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

SIQUEIRA de, J. M.; SILVA da, D. B.; MATOS, M. de F. C.; NAKASHITA, S. T.; MIISU, C. K.; YOSHIDA, N. C.; CAROLLO, C. A.; FABRI, J. R.; MIGLIO, H. da S. Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcaloides oxaporfinicos obtidos de Annonaceae. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1809–1812, 2007.

VILELA, P. R. Casos de Dengue aumentam 113,7% nos quatro primeiros meses de 2022. **Agência Brasil**, 2022. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2022-05/casos-de-dengue-aumentam-1137-nos-quatro-primeiros-meses-de-2022>. Acesso em: 24 fev. 2022.