

Avaliação de um produto a base do Extrato aquoso liofilizado de *Eruca sativa* (Brassicacea) para o controle de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).

Isabelly Domiciano², Edu Araújo Cardoso², Luiza Fonseca Silva², Pedro Lucas Souza de Andrade², Rafaela Brito Ribeiro Santos³, Simone Andrade Glauberto⁴, Debora Cardoso da Silva⁴.

RESUMO

O *Aedes aegypti* é transmissor de arboviroses, e o seu principal controle é o químico, no entanto estes poluem o ambiente e tem provocado insetos resistentes. Os inseticidas botânicos podem ser uma alternativa menos poluente. Avaliou-se a toxicidade do extrato aquoso e do extrato aquoso liofilizado da raiz de *Eruca sativa* sobre larvas de *A. aegypti* e a análise química. O extrato foi obtido através do método de infusão. Sendo que: uma parte do extrato foi liofilizado, a segunda parte foi congelada para posterior análise química e a terceira se manteve com características originais (extrato bruto). Para o bioensaio tanto o extrato liofilizado (já dissolvido em água) e o extrato aquoso foram diluídos na proporção 1:1. Foram utilizados cinco tratamentos: Extrato bruto, Extrato bruto liofilizado aquoso, extrato diluído aquoso (1:1), Extrato diluído liofilizado aquoso (1:1), e o controle que consistiu de água deionizada. Foram utilizadas larvas de terceiro e quarto instar da linhagem Rockefeller. Quanto a mortalidade larval observou-se que, em todos os tratamentos houve mortalidade. Entre os extratos brutos, no extrato liofilizado a mortalidade foi tardia, ocorrendo o mesmo quando avaliamos os extratos diluídos. Na análise química constatou-se a presença de saponinas e carboidratos para os dois extratos, e apenas no extrato liofilizado foi constatado a presença de heterosídeos antocianicos.

Palavras-chave: Dengue, Inseticidas Botânicos, Parasitologia.

Evaluation of a product based on lyophilized aqueous extract of *Eruca sativa* (Brassicacea) for the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae.

Isabelly Domiciano², Edu Araújo Cardoso², Luiza Fonseca Silva², Pedro Lucas Souza de Andrade², Rafaela Brito Ribeiro Santos³, Simone Andrade Glauberto⁴, Debora Cardoso da Silva⁴.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a transmitter of arboviruses, and its main control is chemical, however these pollute the environment and have caused resistant insects. Botanical insecticides can be a less polluting alternative. The toxicity of aqueous extract and lyophilized aqueous extract of *Eruca sativa* root on *A. aegypti* larvae and chemical analysis were evaluated. The extract was obtained through the infusion method. Since: a part of the extract was lyophilized, the second part was frozen for further chemical analysis and the third part was kept with its original characteristics (crude extract). For the bioassay, both the lyophilized extract (already dissolved in water) and the aqueous extract were diluted in a 1:1 ratio. Five treatments were used: Crude Extract, Crude Lyophilized Aqueous Extract, Diluted Aqueous Extract (1:1), Diluted Lyophilized Aqueous Extract (1:1), and the control which consisted of deionized water. Third and fourth instar larvae of the Rockefeller strain were used. As for larval mortality, mortality was observed in all treatments. Among the crude extracts, mortality in the lyophilized extract was late, the same occurring when we evaluated the diluted extracts. The chemical analysis showed the presence of saponins and carbohydrates for both extracts, and only in the lyophilized extract was the presence of anthocyanin heterosides.

Keywords: Dengue, Botanical Insecticides, Parasitology.

INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é hematófago sendo um potencial transmissor de doenças como Zika, Dengue, Chikungunya e da Febre Amarela Urbana, sendo doenças responsáveis por causar fardos a saúde e perdas econômicas em todo o mundo, incluindo o Brasil. É considerado um mosquito cosmopolita. O principal método de controle utilizado é o

¹Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESB

²Graduandos do curso de Ciências Biológicas/UESB/Itapetinga, email:

bellydomi78@gmail.com; eduaraujorcc@hotmail.com; luiza.fonseca184@gmail.com;

pedro.andrade.academico@gmail.com

³Mestranda PPGCA/UESB, email: rafa_abritor@hotmail.com

⁴Docentes DCEN/UESB, email: salgualberto@hotmail.com; dcardoso_rh@hotmail.com

químico com inseticidas sintéticos, que não são biodegradáveis e promovem insetos resistentes (OLIVEIRA, 2017). Neste sentido, tem sido estudada alternativas de controle desses vetores. A utilização de plantas para a obtenção de inseticidas naturais é uma delas, uma vez que algumas espécies produzem compostos bioativos e biodegradáveis que agem contra a herbivoria podendo tornar-se adequados para utilização como bioinseticidas.

A *Eruca sativa* é uma hortaliça folhosa, pertencente a família Brassicaceae, conhecida como rúcula e é amplamente conhecida no Brasil, possuindo uma grande repercussão na área alimentícia. A mistura de sabores entre picante e amargo é o seu diferencial e por conta de seu sabor adstringente e pelo fácil acesso a planta, pesquisas foram feitas voltadas para tratamentos de doenças gástricas, atividade antibacteriana, atividade antimicrobiana para o tratamento de infecção de pele, eficiência agroeconômica. Observou-se que o extrato aquoso da raiz possui ação larvicida contra *A. aegypti* (SANTOS et al., 2021), demonstrando abundância de substância como características bioativas. No entanto como conservar o extrato líquido?

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito larvicida do extrato aquoso e liofilizado das raízes frescas da *Eruca sativa* sobre *Aedes aegypti* obtidos através do método de infusão e realizar a identificação de compostos bioativos através da análise química qualitativa dos extratos.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas foram coletadas em uma horta comunitária localizada no município de Itapetinga-BA, possuindo cerca de 60 dias de idade. Foram enviadas para o Laboratório de Pesquisa de Insetos Naturais (LAPIN) onde foram lavadas, separadas.

Foram utilizados funis de separação, cada um contendo 1L de água deionizada para cada 100g da raiz fresca. Para o processo de infusão a água foi aquecida até atingir ponto de ebulição e após isso foi adicionada ao funil junto a raiz onde repousou por 30 minutos. Após esse tempo, o extrato foi acondicionado em erlenmeyer e deixado resfriar a temperatura ambiente por aproximadamente 12 horas. O extrato foi dividido em três partes, sendo uma para o bioensaio da infusão aquosa, outra para liofilização e outra para congelamento objetivando análise química.

A parte destinada a liofilização foi acondicionado em tubos de Falcon, sendo colocado 25mL do extrato em cada, onde foi armazenado em Ultra Freezer a -80°C, no Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais (LAPRON). A liofilização foi iniciada a partir do 10º dia do início do congelamento, totalizando 17 dias de procedimento. Para o bioensaio foi utilizado 1g do extrato liofilizado diluído em 250mL de água deionizada. O remanescente do material foi guardado para que pudesse ser feito a análise química.

O experimento contou com larvas de *A. aegypti*, linhagem Rockefeller, oriundas de uma colônia estabelecida do LAPIN. Cada ensaio contou com 30 larvas de terceiro e quarto instar por repetição, sendo 5 repetições por tratamento. As larvas foram colocadas em recipiente de vidro com capacidade para 60mL, sendo utilizadas 30mL dos diferentes extratos. As observações foram feitas na primeira hora após o início do experimento e depois realizadas de 2 em 2 horas por um período de 12 horas e depois com 24 e 48 horas.

O experimento contou com 5 tratamentos, sendo eles: Extrato Bruto aquoso (EB), Extrato Bruto Liofilizado (EBL), Extrato Diluído aquoso, na proporção 1:1 (ED), Extrato Bruto Liofilizado, na proporção 1:1 (EDL) e o Controle que consistiu em água deionizada. Os ensaios foram conduzidos em condições de laboratório, com temperatura média de 27°C e umidade relativa do ar média de 75%.

Para a realização da análise química dos metabólitos secundários foi utilizado a metodologia de Mattos (1997) com adaptações de Costa et al. (2001). Para analisar a presença de carboidratos, foi utilizado a metodologia do manual de instruções de química UFSC (2013).

¹Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESB

²Graduandos do curso de Ciências Biológicas/UESB/Itapetinga, email: bellydomi78@gmail.com; eduaraujorcc@hotmail.com; luiza.fonseca184@gmail.com; pedro.andrade.academico@gmail.com

³Mestranda PPGCA/UESB, email: rafa_abritor@hotmail.com

⁴Docentes DCEN/UESB, email: salgualberto@hotmail.com; dcardoso_rh@hotmail.com

O Delineamento experimental foi o inteiramente casualidade. Para a avaliação da mortalidade larval utilizou-se o teste ANOVA e foi aplicado o pós-teste Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a obtenção do material liofilizado, primeiramente foi utilizado 300g de raiz fresca e 3L de água deionizada, que após a infusão foi obtido aproximadamente 2,8 L de extrato. Do total, utilizou-se 2.375ml e após a liofilização obteve-se um rendimento total de 2,2136g de material.

Quando comparado, os resultados de mortalidade obtidos no extrato bruto e o extrato bruto liofilizado observou-se que: enquanto o EB com 2h apresentou mais de 80%, o EBL apresentou 1,33%. Já com 4h a partir do início do experimento, o EB apresentou 100% enquanto o EBL 21,33%. Com 24h de bioensaio, os dois extratos apresentaram 100%. Não houve mortalidade no controle.

Ao comparar os resultados de mortalidade obtidos no ED e o EDL, há diferença significativa. Com 4h o ED apresentou mais de 70%, enquanto o EDL constou 0,66%. Com 6h no ED houve mais de 90% e com 8h o mesmo apresentou 100%, enquanto o EDL e 1,33%. Com 24h o EDL apresentou mais 65% e com 48h obteve mais de 95% de mortalidade.

Ao comparar a análise química do EB e do EBL observou-se que: no EB apresentou saponinas e carboidratos, dissacarídeos, ácidos voláteis e hexoses. No EBL apresentou saponinas, heterosídeos antociânicos, e nos testes de caracterização de carboidratos foi possível identificar dissacarídeos, ácidos voláteis e hexoses.

Khater e Shalaby (2008) testaram a eficácia do extrato aquoso da folha de *E. sativa* sobre larvas de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) e constataram alterações morfológicas entre larvas e pupas à medida que aumentavam as concentrações. Santos et al. (2021) ao avaliarem o extrato aquoso obtido pelo método de decocção da raiz seca da *Eruca* sp. sobre *A. aegypti*, observaram 70% de mortalidade larval e no extrato aquoso obtido pelo método de infusão da raiz fresca foram constatados 100% de mortalidade.

As saponinas atuam na membrana das larvas, causando asfixia ou até mesmo podendo causar desorganização celular das brânquias, de modo que contribuem na regulação osmótica dos organismos, desequilibrando a absorção de íons da água (ANDRADE et al., 2021). A presença de saponinas no EB e no EBL reforçam a ideia de que o processo de liofilização somente sublima a água, fazendo com que os extratos não percam suas substâncias bioativas.

Os heterosídeos antociânicos são polifenóis, sendo relacionados à proteção do fruto contra microrganismos e pragas, e nesse sentido são nocivos para os insetos (ALBUQUERQUE, 2017). No teste de Benedict o aparecimento de um precipitado vermelho tijolo nas amostras se dá devido a reação do oxigênio no ar e íons cúpricos, que são originados a partir das reações de oxirredução entre íons cúpricos que estão na solução e monossacarídeos redutores (SANTOS et al., 2021).

Os carboidratos de plantas possuem papel de interação com algumas proteínas ligantes presentes nas plantas, como as lectinas (PEUMANS & VAN DAMME, 1995). Essas proteínas vão possuir funções de efetividade no combate a insetos causadores de pragas agrícolas, agindo como mecanismo contra a herbivoria.

CONCLUSÕES

Os extratos apontam toxicidade sobre larvas de *A. aegypti*, demonstrando que a raiz possui compostos ativos integrados na ação contra herbivoria. Além disso, a pesquisa mostrou que o produto liofilizado também possui toxicidade, mostrando que a liofilização sublima apenas água, mantendo seus compostos. Neste sentido, é necessário que sejam feitas mais pesquisas voltadas para essa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESB

²Graduandos do curso de Ciências Biológicas/UESB/Itapetinga, email:

bellydomi78@gmail.com; eduaraujorcc@hotmail.com; luiza.fonseca184@gmail.com;

pedro.andrade.academico@gmail.com

³Mestranda PPGCA/UESB, email: rafa_abritor@hotmail.com

⁴Docentes DCEN/UESB, email: salgualberto@hotmail.com; dcardoso_rh@hotmail.com

ALBUQUERQUE, Aline Pacheco et al. **Caracterização de compostos bioativos obtidos por extração hidroalcoólica da casca de cebola roxa**. 2017.

ANDRADE, Juliana Nascimento et al. **Avaliação de extratos de *Phyllanthus acuminatus* Vahl (Phyllantaceae) na mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Culicidae)**. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 1, p. 5278-5295, 2021.

BANDYOPADHYAY, S. et al. **Binding of Garlic (*Allium sativum*) Leaf Lectin to the Gut Receptors of Homopteran Pests is Correlated to Its Insecticidal Activity**. Plant Sci., 161, 1025-1003, 2001.

CASTRO, Denise L. et al. Prospecção fitoquímica das flores de *Unxia kubitzkii*. **Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia-ISSN: 1984-5693**, v. 10, p. 135, 2018.

KHATER, H. F.; SHALABY, A. A. **Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from an Egyptian locality**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, v. 50, n. 2, p. 107-112, 2008.

MATOS F.J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997

OLIVEIRA, S. R. de, Caleffe, R. R. T., & Conte, H. (2017). **Chemical control of *Aedes aegypti*: A review on effects on the environment and human health**. Revista Eletrônica Em Gestão, Educação E Tecnologia Ambiental, 21(3), 240–247. <https://doi.org/10.5902/223611702979>

PEUMANS, Willy J.; VAN DAMME, E. J. **Lectins as plant defense proteins**. Plant physiology, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

SANTOS, Rafaela et al. **Potencial larvicida do extrato aquoso da raiz de *Brassica sativa* (brassicaceae) sobre *Aedes aegypti* (diptera: culicidae)**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, v. 18, n. 37, 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia UESB), assim com toda a equipe do Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais (LAPIN) e a toda equipe NUPESQ. Meus agradecimentos também ao CNPQ pelo apoio financeiro para que assim pudesse ser realizado toda a pesquisa.



¹Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESB

²Graduandos do curso de Ciências Biológicas/UESB/Itapetinga, email: bellydomi78@gmail.com; eduaraujorcc@hotmail.com; luiza.fonseca184@gmail.com; pedro.andrade.academico@gmail.com

³Mestranda PPGCA/UESB, email: rafa_abritor@hotmail.com

⁴Docentes DCEN/UESB, email: salgualberto@hotmail.com; dcardoso_rh@hotmail.com

¹Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESB

²Graduandos do curso de Ciências Biológicas/UESB/Itapetinga, email:
bellydomi78@gmail.com; eduaraujorcc@hotmail.com; luiza.fonseca184@gmail.com;
pedro.andrade.academico@gmail.com

³Mestranda PPGCA/UESB, email: rafa_abritor@hotmail.com

⁴Docentes DCEN/UESB, email: salgualberto@hotmail.com; dcardoso_rh@hotmail.com