

# **EFEITOS DE EXTRATOS DE PIMENTA-PRETA SOBRE LARVAS DE *Culex (Culex) quinquefasciatus* SAY (DIPTERA: CULICIDAE)**

Samira Chahad<sup>1</sup> e Mari I.C. Boof<sup>1</sup>

## **ABSTRACT**

Effect of Black-Pepper Extracts on the Larvae of *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae)

The toxic effect of black-pepper extracts on 4th instar of *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say was evaluated. Testing was performed with methanolic and acetonc soxhlet, and methanolic and acetonc macerate extracts. Results indicated that toxic effects to mosquitoes larvae were observed in all tested concentrations. In average, the extracts obtained by the soxhlet method of extration produced higher mortality and letal time than those obtained by maceration.

KEY WORDS: Insecta, mosquitoes, toxicity, plant extracts.

## **RESUMO**

Avaliou-se o efeito tóxico de extratos de pimenta-preta sobre larvas de quarto instar de *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say. Os testes foram efetuados com extratos soxhlet metanólico e acetônico, e macerado metanólico e acetônico. Os resultados demonstraram que o efeito tóxico para larvas de mosquito foram verificados em todas as concentrações utilizadas. Os extratos obtidos pelo método de extração soxhlet tiveram, em média, mortalidade e tempo letal superiores aos extratos resultantes da maceração.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, mosquitos, toxicidade, extratos vegetais.

---

Recebido em 01/10/92.

<sup>1</sup>Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Caixa postal 19020, 81531-970 Curitiba, PR.

## INTRODUÇÃO

A elevada densidade e antropofilia de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say, são razões que tornam este mosquito o principal vetor de filariose bancroftiana, em certas áreas do Brasil (Rey 1991). Levantamentos de densidade populacional, feitos por Micks *et al.* (1980), indicaram que esta espécie é, essencialmente, domiciliada e sua população tem-se mostrado alta, nas áreas urbanizadas. A aplicação de inseticidas sintéticos tem sido o principal agente no combate e controle de insetos vetores. Consoli *et al.* (1986) afirmaram que em 1980 foram constatadas 142 espécies de culicídeos apresentando resistência múltipla aos inseticidas sintéticos tradicionalmente utilizados. Micks *et al.* (1980) observaram que *C. quinquefasciatus*, além de ter sido a espécie de maior frequência, foi assinalada como resistente a inseticidas. Além de causar o desenvolvimento de raças resistentes, os inseticidas tradicionais causam o envenenamento de trabalhadores, de animais domésticos, contaminação das águas, distúrbios genéticos e outros (Sighamoni *et al.* 1986). Devido ao alto custo sócio-econômico dos inseticidas tradicionais estão sendo buscadas alternativas econômicas, eficientes e ecologicamente compatíveis, como as substâncias de origem vegetal; Hartzell (1944) relatou que plantas que contêm substâncias tóxicas para larvas e adultos de mosquitos estão distribuídas por todo o mundo. Amonkar & Reeves (1970), observaram que o extrato macerado metanólico e óleo purificado de alho (*Allium sativum*) apresentaram efeito tóxico sobre larvas do 3º instar dos mosquitos *Culex* spp. e *Aedes* spp. Angerilli (1980) testou extratos de oito espécies de vegetais de água doce e observou que todos os extratos tiveram efeito tóxico sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus) e seis dos extratos repeliram as fêmeas na ocasião da postura. Attri & Prasad (1980) observaram que óleo de *Azadiracta indica* (Meliaceae) foi altamente tóxico para larvas de *C. quinquefasciatus*. Dhillon *et al.* (1982) verificaram que extratos metanólicos e benzênicos de *Myriophyllum spicatum* (Haloragaceae) foram tóxicos para larvas de *C. quinquefasciatus*, provocando morte de 60 a 100% das larvas. Banerji *et al.* (1990), isolaram, a partir de extrato de *Artemisia nilagirica* (Compositae) a substância "capillin" com poder tóxico sobre larvas de *C. quinquefasciatus*.

Frutos de *Piper nigrum* (Piperaceae) possuem em sua constituição, alcalóides e amidas insaturadas, com efeitos tóxicos sobre insetos (Chapman 1974). Hartzell & Wilcoxon (1941) verificaram efeito tóxico de extratos de *P. nigrum* sobre larvas de *C. quinquefasciatus*. Hartzell (1944) trabalhou com extrato acetônico e aquoso de *P. nigrum* e observou que o extrato acetônico, na dosagem de 29 ppm, causou morte de 50% das larvas de *C. quinquefasciatus*, ao passo que o extrato aquoso não mostrou nenhum efeito. Neste trabalho, verificou-se o efeito de extratos brutos de *P. nigrum* sobre larvas de 4º instar de *C. quinquefasciatus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pimenta, em grão, utilizada para a obtenção dos extratos foi adquirida no comércio, com as seguintes características: preta, não moída, aparência sadia e com casca. Os extratos foram obtidos através de dois métodos: maceração e soxlet. Os solventes orgânicos utilizados para a extração foram acetona (PA) e metanol (PA). No método macerado, os grãos da pimenta foram moídos até a condição de pó fino. Este pó foi separado em duas partes iguais, cada uma delas foi submetida à maceração durante 10 dias, com os solventes acetona e metanol, misturando-se volumes em partes iguais de solvente em pó de pimenta. Após 10 dias de

maceração, cada mistura foi filtrada e a solução obtida foi armazenada em frascos de cor escura e observados à temperatura 0°C. Para o método soxhlet, amostras de 100 gramas de pimenta moída foram colocadas no extrator de soxhlet, junto com os solventes acetona (PA) e metanol (PA). Estes materiais permaneceram em refluxo durante 48 horas. Após, as soluções obtidas foram reduzidas ao volume de 100 ml através da retirada dos solventes no aparelho rota vapor. As soluções foram colocadas em frascos escuros e conservados à 0°C.

Os ensaios, para determinar o efeito tóxico sobre as larvas, foram conduzidos em sala climatizada à temperatura de  $25,7 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . Foram utilizados os extratos soxhlet metanólicos e acetônico, e macerado metanólico e acetônico, cada um em cinco concentrações diferentes, em quatro repetições com duas testemunhas, uma com solvente e outra com água. Na ordem acima citada dos extratos, as concentrações foram agrupadas respectivamente em C1= 2,6, 2,2, 1,3 e 1,1 ppm, C2= 5,2, 4,4, 2,6 e 2,2 ppm, C3= 10,4, 8,8, 5,2 e 4,4 ppm, C4= 20,8, 17,6, 10,4 e 8,8 ppm e C5= 41,6, 35,2, 20,8 e 17,6 ppm. Em cada tratamento usou-se um pote com 200 ml de água, com a devida concentração do extrato onde foram colocadas 25 larvas de 4º instar de *C. quinquefasciatus* que haviam sido coletadas em água de floreiras do Cemitério Municipal Água Verde de Curitiba, Paraná. Avaliou-se o número de larvas mortas em intervalos de 12 horas por um período de 48 horas, após a instalação dos ensaios. Calculou-se a percentagem de larvas mortas, sendo a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott. Foi aplicada a análise de variância para detectar diferenças das médias das mortalidades entre os tipos de extratos, suas concentrações e o tempo de exposição das larvas aos extratos. Para contrastar estas médias, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de significância de 5% ( $P>0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No geral, através das análises efetuadas verificou-se que as médias de mortalidade larval foram significativamente mais expressivas nos extratos soxhlet acetônico e metanólico, e as menores com o macerado metanólicos (Tabela 1). Com relação ao tempo de exposição aos extratos, constatou-se as maiores médias de mortalidade de *C. quinquefasciatus* 36 horas após o tratamento, enquanto que por 12 horas não foi significativamente eficiente (Tabela 2).

Tabela 1. Médias de mortalidade das larvas de *Culex quinquefasciatus* quanto aos diferentes tipos de extratos.

Extratos	Num. repet.	Médias originais <sup>1</sup>
Soxhlet metanólico	28	47,9 a
Soxhlet acetônico	28	38,2 a
Macerado acetônico	28	34,0 ab
Macerado metanólico	28	18,7 b

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey,  $P= 0,05$ .

Quanto as diferenças entre as médias nas cinco concentrações dos extratos, as mais eficientes foram observadas em C4 e C5. As C1 não foram significativamente tão eficientes quanto as supra citadas e as C3 e C2 não obtiveram diferenças. Para as médias de mortalidade larval destas cinco concentrações, evidenciou-se também efeito tóxico significativo quando comparadas com as médias das testemunhas (Tabela 3).

Os extratos soxhlet metanólico, a 5,2 ppm e soxhlet acetônico, a 4,4 ppm causaram mortalidade superior a 50% das larvas, após 12 horas do tratamento, enquanto que nas concentrações de 2,6 e 2,2 ppm, respectivamente, a mortalidade de 50% das larvas só foi atingida nas 36 horas após o tratamento (Tabela 4). A mortalidade máxima no extrato soxhlet metanólico, foi atingida a partir das 12 horas e com a maior concentração testada, 41,6 ppm;

Tabela 2. Médias de mortalidade das larvas de *Culex quinquefasciatus* quanto ao tempo de exposição aos extratos.

Tempo	Num. repet.	Médias originais <sup>1</sup>
36 horas	28	43,4 a
48 horas	28	36,3 ab
24 horas	28	31,6 ab
12 horas	28	25,2 b

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, P= 0,05.

para o extrato soxhlet acetônico a mortalidade máxima foi atingida a partir das 24 horas na concentração de 17,6 ppm. Nos extratos macerado metanólico e acetônico, verifica-se, que as menores concentrações não foram eficientes para o controle, e que as maiores concentrações testadas proporcionaram mortalidade máxima das larvas. No extrato macerado metanólico, a mortalidade de 50% ou superior foi atingida na concentração 5,2 ppm, 36 horas após o tratamento e no extrato macerado acetônico mortalidade acima de 50% das larvas foi atingida a partir de 36 horas a partir do tratamento na concentração 2,2 ppm. Dhillon *et al.* (1982)

Tabela 3. Médias de mortalidade das larvas de *Culex quinquefasciatus* quanto às concentrações dos extratos.

Concentrações	Num. repet.	Médias originais <sup>1</sup>
C5	16	98,4 a
C4	16	94,0 a
C3	16	69,0 ab
C2	16	43,7 bc
C1	16	30,5 c
Sem/solvente	16	0,0 d
Com/solvente	16	0,0 d

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, P= 0,05.

verificaram que extrato de *Myriophyllum spicatum* nas concentrações de 255, 637 e 1275 ppm causaram mortalidade de 90 a 100% em larvas de 1º e 4º instar de *C. quinquefasciatus* e que o tempo letal (TL50) para a maior concentração (1275 ppm) foi de dois dias, e que para a menor concentração testada (64 ppm) foi de cinco a seis dias. Neste trabalho o tempo letal para os extratos soxhlet metanólico e acetônico, nas menores concentrações de 2,6 e 2,2 ppm, respectivamente, foi de 36 horas, enquanto que para as demais concentrações foi de 12 horas. Para o extrato macerado metanólico, o tempo letal foi verificado 36 horas após a exposição à concentração de 5,2 ppm. No extrato macerado acetônico, o tempo letal para as concentrações 1,1 e 2,2 ppm ocorreu às 48 e 36 horas, respectivamente, e nas duas mais altas concentrações dos extratos macerados metanólico e acetônico o TL50 ocorreu a partir das 12 horas de exposição.

Tabela 4. Mortalidade acumulada (%) quando larvas de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* foram expostas à água contendo diferentes concentrações dos extratos de *Piper nigrum*<sup>1</sup>

Extratos	Concentração (ppm)	Tempo após o tratamento (horas)			
		12	24	36	48
Soxhlet metanólico	sem/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	com/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	2,6	21,0	41,0	51,0	54,0
	5,2	67,0	79,0	91,0	92,0
	10,4	91,0	97,0	98,0	98,0
	20,8	97,0	97,0	97,0	97,0
	41,6	100,0	100,0	100,0	100,0
Soxhlet acetônico	sem/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	com/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	2,2	31,0	43,0	60,0	70,0
	4,4	53,0	60,0	68,0	71,0
	8,8	72,0	78,0	86,0	93,0
	17,6	99,0	100,0	100,0	100,0
	35,2	98,0	100,0	100,0	100,0
Macerado metanólico	sem/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	com/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
	2,6	3,0	11,0	20,0	34,0
	5,2	13,0	29,0	52,0	59,0
	10,4	81,0	93,0	100,0	100,0
	20,8	90,0	96,0	100,0	100,0
Macerado acetônico	sem/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	com/solvente	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,1	19,0	21,0	33,0	60,0
	2,2	31,0	40,0	61,0	69,0
	4,4	56,0	69,0	78,0	80,0
	8,8	79,0	84,0	91,0	91,0
	17,6	96,0	98,0	98,0	98,0

<sup>1</sup>Mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.

Dos ensaios efetuados, conclui-se que os extratos soxhlet metanólico e acetônico, e macerado metanólico e acetônico de *P. nigrum* apresentaram efeito tóxico para as larvas de 4º instar de *C. quinquefasciatus*, em todas as concentrações testadas. Os extratos obtidos pelo método de extração soxhlet, tiveram em média mortalidade e tempo letal superiores aos extratos obtidos pelo método maceração. Nas menores concentrações testadas (1,3 e 2,6 ppm), o extrato macerado metanólico foi menos eficiente para o controle de larvas de *C. quinquefasciatus*, que os demais extratos.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Curitiba, Paraná, por autorizar as coletas das larvas nas floreiras do Cemitério Municipal Água Verde.

### LITERATURA CITADA

- Amonkar, S.V. & E.L. Reeves 1970.** Mosquito control with active principle of garlic, *Allium salivum*. J. Econ. Entomol. 63: 1171-1175.
- Angerilli, N.P.D. 1980.** Influences of extracts of freshwater vegetation on the survival and oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Can. Entomol. 112: 1249-1252.
- Attri, B.S. & R. Prasad, 1980.** Neem oil extractive an effective mosquito larvicide. Indian J. Entomol. 42: 371-374.
- Banerji, A., D.L. Luthria & S.D. Kokate 1990.** Toxicity of capillin, the insecticidal principle of *Artemisia nilagirica* Clarke. Indian J. Exp. Biol. 28: 588-589.
- Chapman, R.F. 1974.** The quimical inhibition of feeding by phytophagous insects. Rev. Bull. Entomol. Res. 64: 334-363.
- Consôli, R.A.G.B., J.P. Pereira, J.N. Silveira & M.M.T. Castro 1986.** Suscetibilidade de adultos de *Culex quinquefasciatus* (Say) e *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) a diversos inseticidas em laboratório. Rev. Bras. Entomol. 30: 79-85.
- Dhillon, M.S., M.S. Mulla & Y.S. Hwang 1982.** Allelochemicals produced by the hydrophyte *Myriophyllum spicatum* affecting mosquitoes and midges. J. Chem. Ecol. 8: 517-526.
- Hartzell, A. 1944.** Further tests on plant products for insecticidal properties. Contrib. Boyce Thompson Inst. 13: 243-252.
- Hartzell, A. & F. Wilcoxon 1941.** A survey of plant products for insecticidal properties. Contrib. Boyce Thompson Inst. 12: 127-141.
- Micks, D.W., W.B. Moon & J.C. McNeill 1980.** Malathion tolerance vs. resistance in *Culex quinquefasciatus*. Mosquito News 40: 520-523.
- Rey, L. 1991.** Parasitologia. 2ª ed, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 731 p.
- Sighamoni, S., I. Anees, T. Chandrakala & Z. Osmani 1986.** Efficacy of certain indigenous plant products as grain protectants against *Sitophilus oryzae* (F.). J. Stored Prod. Res. 22: 21-22.