



Scientific Research and Reviews (DOI:10.28933/SRR)



Efeito Do Extrato De Cladódios De Opuntia Fícus-Indica Na Sobrevivência De Larvas De Aedes Aegypti

Vila-Nova I.C¹, Nascimento J.S², Navarro D.M.F.A³, Almeida W.A⁴, Napoleão T.H⁵, Pontual E.V⁶

1Graduando do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas – UFRPE; 2Graduada em Ciências Biológicas-UFRPE; 3Docente da UFPE- Departamento de Química Fundamental, CCEN-UFPE; 4Graduando em Ciências Biológicas-UFPE; 5Docente da UFPE-Departamento de Bioquímica, CB-UFPE; 6Docente/Pesquisador do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal-UFRPE

ABSTRACT

O Ministério da Saúde do Brasil declarou estado de emergência de saúde pública em decorrência dos altos índices de casos de microcefalia, os quais têm sido associados ao vírus zika¹. Nesse contexto, o controle de populações do mosquito *Aedes aegypti* tem se tornado a principal medida de prevenção da doença. Além de vetor do vírus zika, o *A. aegypti* é vetor da dengue, da chicungunya e da reemergente febre amarela.

Com o propósito de eliminar criadouros do *A. aegypti*, inseticidas sintéticos têm sido utilizados. Essa prática se iniciou em 1986, quando houve um dos primeiros surtos de dengue nas Américas². Contudo, nem sempre este método é eficaz, uma vez que tem resultado na seleção de populações de mosquitos resistentes. Nesse sentido, plantas têm sido estudadas como fonte de compostos bioativos com efeitos tóxicos sobre os insetos, incluindo as lectinas³.

Lectinas são proteínas capazes de ligar carboidratos e aglutinar células de maneira reversível e específica. São encontradas em vários organismos, como plantas, vírus, bactérias, fungos, invertebrados⁴ e vertebrados⁵. As lectinas possuem várias aplicações biotecnológicas, incluindo o efeito inseticida que pode estar relacionado à capacidade de interagir com resíduos de N-acetilglicosamina ou com proteínas glicosiladas da matriz peritrófica ao nível do intestino dos insetos, alterando suas propriedades e agredindo a sua integridade⁶.

Cladódios de *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae), conhecida popularmente como palma forrageira, são utilizados na medicina popular por apresentar efeito antiulcerogênico, cicatrizante e diurético⁷. Essa planta também representa uma importante fonte alternativa de alimento para animais⁸.

Relatos prévios indicaram que os cladódios de *O. ficus-indica* expressam uma lectina que apresenta atividade inseticida contra cupins da espécie *Nasutitermes corniger* ⁶. Aqui nós relatamos os resultados da investigação do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* quanto à atividade larvicida contra *A. aegypti* e efeito na permeabilidade da matriz peritrófica de larvas.

*Correspondence to Author:

Vila-Nova I.C

Graduando do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas – UFRPE

How to cite this article:

Vila-Nova I.C, Nascimento J.S, Navarro D.M.F.A, Almeida W.A, Napoleão T.H, Pontual E.V. Efeito Do Extrato De Cladódios De Opuntia Fícus-Indica Na Sobrevivência De Larvas De Aedes Aegypti. Scientific Research and Reviews, 2018, 7:58



eSciPub LLC, Houston, TX USA.

Website: <http://escipub.com/>

METODOLOGIA

Obtenção do Extrato de *O. ficus-indica*

Cladódios de *O. ficus-indica* foram coletados em Pau Amarelo (Paulista/PE), secos ao ar (25° C) e triturados. A farinha obtida (10 g) foi homogeneizada (16 h, 4° C) em NaCl 0,15 M (50 ml). Após filtração e centrifugação (4.000 g, 15 min), o sobrenadante correspondeu ao extrato de cladódios. O extrato foi avaliado quanto à atividade hemaglutinante em placas de microtitulação, de acordo com Napoleão et al.⁹ (2012), utilizando-se solução de eritrócitos de coelho glutarizados¹⁰. A atividade hemaglutinante foi definida como o inverso da maior diluição do extrato de cladódios capaz de promover hemaglutinação. A atividade hemaglutinante específica correspondeu à razão entre o título e a concentração da proteína (mg/mL). O Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPE aprovou o método de coleta dos eritrócitos (processo 23076.033782/2015-70).

Ensaio Larvicida

A atividade larvicida do extrato de cladódios foi investigada utilizando-se uma adaptação do método recomendado pela Organização Mundial de Saúde (1981) descrita por Navarro et al (2003)¹¹. Vinte larvas de *A. aegypti* no quarto instar foram imersas em 20 mL do extrato de cladódios (0,72-4,3%, m/v) ou de NaCl 0,15 M (solução controle). Os ensaios foram conduzidos no escuro, à temperatura entre 25–27°C durante 24 h. As larvas foram consideradas mortas quando não foram capazes de responder a estímulos ou quando não realizaram movimentos em direção à superfície da solução. Três ensaios independentes foram realizados em triplicata.

Efeito na permeabilidade da matriz peritrófica

O efeito do extrato de cladódios na matriz peritrófica das larvas foi avaliado de acordo com Edwards e Jacobs-lorena (2000)¹² para indicar um possível mecanismo de ação da atividade inseticida. Para isso, larvas previamente tratadas com o extrato de cladódios na concentração de 4,32% e alimentadas com

carvão ativado (0,01%) durante 24 h foram dissecadas e os intestinos médios removidos cuidadosamente com o auxílio de uma agulha. Em seguida os intestinos foram colocados em tampão fosfato de sódio (0,1 M pH 7,0 contendo NaCl 0,15) e imediatamente fotografados utilizando um estereomicroscópio com aumento de 6,8 x. O grupo controle correspondeu a larvas não tratadas e alimentadas com carvão ativado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho foi estimulado pela atual importância do mosquito *A. aegypti* como vetor de doenças endêmicas no Brasil e no mundo. A escolha dos cladódios de *O. ficus-indica* como material de partida foi baseada nos prévios relatos de atividade inseticida para esta planta. O extrato de cladódios de *O. ficus-indica* foi obtido com a concentração de 7,2% (m/v) e o ensaio de hemaglutinação revelou uma atividade específica de 178, sugerindo a presença de lectinas no extrato e confirmando os resultados publicados por SANTANA et al (2008)¹³. O extrato de cladódios causou mortalidade das larvas de *A. aegypti* após 48 h (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* na sobrevivência de larvas de *A. aegypti* no quarto instar. L4: larvas de *A. aegypti* no quarto instar. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os valores, os quais foram obtidos utilizando o Teste T de Student e considerando como significativos valores de $p < 0,05$.

Extrato de cladódio (% m/v)	Taxa de mortalidade de L4 (%)
0	0 ± 0 ^a
0,72	25 ± 0 ^b
2,8	37,5 ± 3,5 ^c
4,3	40 ± 14 ^c

A matriz peritrófica é uma estrutura anatômica em forma de filme, composta de proteínas, proteoglicanos e quitina, que reveste todo o intestino médio dos insetos, impedindo o contato do conteúdo do lúmen intestinal com as células do epitélio digestivo. A matriz peritrófica

é também capaz de limitar a entrada de possíveis patógenos, uma vez que o tubo digestivo é a rota mais comum de infecção⁹. Nesse sentido, para sugerir um possível mecanismo para a atividade larvicida do extrato de cladódios, seu efeito sobre a matriz peritrófica das larvas foi investigado. Os resultados revelaram que o extrato de cladódios aumentou a permeabilidade da matriz peritrófica, uma vez que houve extravasamento

do carvão ativado para fora dos limites do intestino (Figura 1).

A alteração da permeabilidade da matriz peritrófica pelo tratamento com o extrato de cladódios pode estar relacionada com a presença de lectina nessa preparação, devido à sua capacidade de interagir com resíduos de N-acetil-glicosamina presentes na quitina que compõe essa membrana⁹.



Figura 1. Efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* sobre a membrana peritrófica de larvas de *A. aegypti* no quarto instar. (A) Larva alimentada com solução controle (NaCl 0,15 M) e carvão ativado (0,01%) (B) Intestino dissecado da Larva alimentada com solução controle e carvão ativado. (C) Larva alimentada com o extrato de cladódios (4,32 %) e carvão ativado. (D) Intestino dissecado da larva alimentada com o extrato de cladódios e carvão ativado. As imagens foram visualizadas em microscópio estereoscópico com aumento de 6,8 x.

CONCLUSÃO

Os dados aqui apresentados indicam que o extrato de cladódios de *O. ficus-indica* é tóxico para larvas de *A. aegypti* por interferir na permeabilidade da matriz peritrófica. Esses efeitos podem estar relacionados à presença de lectinas no extrato.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde Sistema de Informação sobre Doenças de Declaração Obrigatória. Incidência de casos de dengue e número de óbitos no Brasil de 1990 a 2015, 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados-dengue>>. Acesso em 10 dez. 2016.
- WHO: World Health Organization 2009. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO/HTM/NTD/DEN/2009.
- GRZYBOWSKI, A. et al. Brazilian Journal of Pharmacognosy: The combined action of phytolarvicides for the control of dengue fever vector, *Aedes aegypti*, 22(3): 549-557, may/jun. 2012.
- AGRA-NETO, A.C. et al., 2014 Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. Parasitol Research, 113,175-184.
- MAKKER, N.P.; Conlin, J.; Hogan, V.; RAZ, A. Carbohydrate-binding proteins in cancer, and their ligands as therapeutic agents. Trends in Molecular medicine. 8(4): 187-192, 2002.
- PAIVA, P. M. G., Santana, G. M. S., Souza, I. F. A. C., Albuquerque, L. P., Agra-Neto, A. C., Albuquerque, A. C., Luz, L. A., Napoleão, T. H., Coelho, L. C. B. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. International Biodegradation and Biodeterioration. v. 65, p. 982-989, 2011b.

7. GALATI, E.M., Monforte, M.T., Tripodo, M.N., d'Aquino, A. and Mondello, M.R. 2001. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*, 76, 1-9.
8. TEGEGNE, F., Kijora, C. and Peters, K.J. Study on the optimal level of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) supplementation to sheep and its contribution as source of water. *Small Ruminant Research*. 72, 157-164. 2007.
9. NAPOLEÃO, T.H., Pontual, E.V., Lima, T.A., Santos, N.D.L., Sá, R.A., Coelho, L.C.B.B., Navarro, D.M.A.F., Paiva, P.M.G., 2012 Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. *Parasitology Research*, 110, 609-616.
10. BING, D. H.; Weyand, J. G. M.; Stavinsky, A. B. Hemagglutination with aldehyde fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v. 124, p. 1166-1170, 1967.
11. NAVARRO, M.A.F., Oliveira, P.E.S., Potting, R.J.P., Brito, A.C., Fital, S.J.F., Sant'Ana, A.E.G., 2003. The potential attractant or repellent effects of different water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Dipt., Culicidae). *Journal of Applied Entomology*, 127, 46–50.
12. EDWARDS, M.J., JACOBS-LORENA, M., 2000. Permeability and disruption of the peritrophic matrix and caecal membrane from *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquito larvae. *Journal of Insect Physiology*, 46, 1313–1320.
13. SANTANA, G.M.S. Purificação, caracterização e avaliação da atividade fúngica da Lectina de Cladônias de *Opuntia ficus indica*. 2008. 43 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Departamento de Bioquímica, Pernambuco, 2009.

