



INSTITUTO FEDERAL
Piauí
Campus Pedro II



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PEDRO II
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JEFFERSON SOUSA SILVA

AVALIAÇÃO DO POTECLAL INSETICIDA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE
***Annona muricata* EM LARVAS DE MOSCAS**

ORIENTADOR: ESTERFÂNIA ARAUJO BARBOSA FARIAS
CO-ORIENTADOR: MARINEIDE RODRIGUES DO AMORIM

PEDRO II/2020

**AVALIAÇÃO DO POTEICIAL INSETICIDA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE
Annona muricata EM LARVAS DE MOSCAS**

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia) apresentado como exigência parcial para obtenção do diploma do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. Campus Pedro II.

Orientador: Esterfânia Araujo Barbosa Farias

Co-Orientador: Marineide Rodrigues do Amorim

Silva , Jefferson Sousa
S586a Avaliação do potencial inseticida do extrato hidroalcoólico de
Annonamuricata em larvas de mosca / Jefferson Sousa Silva. -
2020.

44 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências
Biológicas) -Instituto Federal do Piauí, Campus Pedro II, 2020.

Orientadora: Profa. Esp. Esterfânia Araújo Barbosa Farias.
Coorientadora: Profa. Ma. Marineide Rodrigues de Amorim.

1. Controle de pragas. 2. Bioinseticida. 3. Annona muricata. I. Título.

CDD - 570

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Wirllanna Naira da Silva Torres CRB
3/1088

**AVALIAÇÃO DO POTECIAL INSETICIDA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE *Annona muricata* EM LARVAS DE MOSCAS**

Trabalho de Conclusão de
Curso (monografia)
apresentado como exigência
parcial para obtenção do
diploma do Curso de
Licenciatura em Ciências
Biológicas do Instituto
Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do
Piauí. Campus Pedro II.

Aprovado em: 10/02/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Mestranda Esterfânia Araujo Barbosa Farias

(Orientadora)

Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Esp. Márcia Rúbia de Oliveira Lima

Instituto Federal do Piauí (IFPI)

M.^a Sandra Mara Barbosa Rocha

Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Dedico a minha família que sempre
incentivou e apoiou minha carreira
acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me dar força e persistência para efetivar esse trabalho.

Agradeço também a Ecoescola Tomas A Kempis por ter abrido às portas para realização das coletas para pesquisa.

Agradeço a minha orientadora professora Esterfânia Farias pelo suporte durante a execução do trabalho e dicas sobre sua experiência com a temática.

A alguns colegas da turma de Biologia do campus pelo incentivo que auxiliou na manutenção de confiança na produção do trabalho.

E ao IFPI pela estrutura laboratorial excelente para execução satisfatória da pesquisa.

“O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário”

Albert Einstein

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Usos medicinais de metabólitos secundários em espécies da Ilha de Algodual, município de Maracanã, Estado do Pará.....	17
Figura 2- Região de coleta das folhas da planta.....	21
Figura 3- Fases de elaboração do extrato	22
Figura 4- Representação do local de aplicação das armadilhas (X) para captura das larvas e adultas das moscas.	23
Figura 5 - Representação da armadilha para as larvas e a coleta das larvas depositadas na armadilha no laboratório de Ciência e Química do IFPI-Pedro II.....	24
Figura 6 - Larvas encontradas na armadilha	25
Figura 7 - Distribuição do extrato nas amostras de larvas	26
Figura 8 - Comportamento larval após 5 minutos de aplicação do extrato hidroalcoólico nos tratamentos I e II	26
Figura 9 - Índice de agitação das larvas 5 minutos após aplicação do extrato.....	27
Figura 10 - Índice agitação larval em após 30 minutos de ensaio	27
Figura 11- Comportamento larval observado em até 6 horas de aplicação do extrato	28
Figura 12 - comportamento em diferentes momentos do tratamento em até 6 horas de aplicação do extrato.,.....	29
Figura 13 –Variação das espécies fora das placas após 24 horas de aplicação do extrato	30
Figura 14 –Taxa de morte larval durante 4 dias de ensaio	32
Figura 15 - A percentagem de eficiência no controle de insetos-praga.....	33
Figura 16 - Representação de larvas sobreviventes dentro do algodão e todas espécies mortas em um dos tratamentos após 4 dias	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxas de repelência das larvas durante as primeiras 24 horas submetidas ao Test t	30
Tabela 2 - Taxas de mortalidade das larvas tratadas com 60 ml das concentrações	31

RESUMO

O uso de produtos químicos em pragas patógenas e estressantes é algo recorrente devido sua eficácia. Porém, estudos apontam problemas ambientais que seu manejo inadequado pode causar, principalmente poluições, intoxicações e desenvolvimento de espécies resistentes ao produto. O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é um programa que busca evitar utilização excessiva de produtos químicos, incentivando o uso de plantas com propriedades repelentes e inseticidas. Annonacea é uma família que possui um grande potencial tóxico para pragas, porém apenas cerca de 2% de suas espécies foram exploradas nesse sentido. Portanto, o presente trabalho visou avaliar o potencial inseticida de extrato hidroalcoólico de *Annona muricata* em larvas de moscas em Pedro II-Piauí. A coleta da planta ocorreu na Ecoescola Thomas A Kempis e o extrato hidroalcoólico preparado no IFPI- campus Pedro II por processos de lavagem da folha, secagem, trituração, etanol 50%, filtragem, banho-maria, evaporação e aplicação em concentrações 100%, 50%, 25%, 12,5%, um grupo controle e utilização de Test t e ABOOT para análise de dados. Verificou-se que apenas o tratamento 3 apresentou $p > 0,005$ para o Teste t, indicando que foi única que não apresentou significância para repelência nas primeiras 24 horas e aceitou H_0 . Já para ação inseticida, os três primeiros dias indicaram índice de eficiência B (baixo) e S (seletiva) apenas após 4 dias obteve-se escala A (Alta). Dessa forma, o presente trabalho indicou que a ação repelente foi mais fortemente verificada, enquanto que a inseticida somente ocorreu após 4 dias sem condições alimentícias para as larvas. Não houve estímulos a pulpação. Com isso, visto que a planta possui potencial tóxico, é essencial pesquisas para identificação dos princípios ativos responsáveis pela resposta repelente e inseticida nas larvas, bem como identificação das espécies afetadas no presente trabalho.

Palavras chave: *Annona*. Extrato. Toxicidade. Larvas.

ABSTRACT

The use of chemicals in pathogenic pests and stressful is recurrent due to its effectiveness. However, studies point out environmental problems that its improper handling can cause mainly pollutions, intoxications and the development of species resistant to the product. The Manejo Integrado de Pragas (MIP) is a program that seeks to avoid excessive use of chemicals, encouraging the use of plants with repellent and insecticidal properties. Annonaceae is a family that has a great toxic potential for pests, however only about 2% of its species have been explored in this regard. Therefore, the present work aimed to evaluate the insecticidal potential of hydroalcoholic extract of *Annona muricata* in fly larvae in Pedro II-Piauí. The plant was collected at the Ecoescola Tomas A Kempis and hydroalcoholic extract prepared at IFPI-campus Pedro II by leaf washing, drying, crushing, 50% ethanol, filtration, water bath, evaporation and application in concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, a control group and use of Test t and ABOOT for data analysis. It was found that only treatment 3 presented $p > 0.005$ for the t test, indicating that it was the only one that did not show significance for repellency in the first 24 hours and accepted H_0 . As for insecticidal action, the first three days indicated efficiency index B (low) and S (selective) only after 4 days, scale A (High) was obtained. Thus, the present study indicated that the repellent action was more strongly verified, while the satisfactory insecticide occurred only after 4 days without feeding conditions for the larvae. There was no stimulus to pupation. Thus, since the plant has toxic potential, research is essential to identify the active principles responsible for the repellent and insecticidal response in the larvae, as well as the identification of the species affected in the present work.

Keywords: Annona. Extract. Toxicity. Larvae.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS	13
1.1.1 Geral	13
1.1.2 Específicos	13
1.2 JUSTIFICATIVA	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 PRAGAS URBANAS: MOSCAS.....	15
2.2 DEFENSIVOS QUÍMICOS	15
2.3 EXTRATOS BOTÂNICOS	16
2.3.1 Metabólitos secundários	16
2.4 FAMÍLIA ANONACEAE	18
2.4.1 O gênero <i>Annona</i>	19
3 METODOLOGIA	21
3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	21
3.2 EXTRATO HIDROALCOÓLICO	21
3.3 OBTENÇÃO DAS LARVAS DAS MOSCAS	22
3.4 REALIZAÇÃO DOS BIOENSAIOS	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXO A - CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DA <i>Annona muricata</i>	42
ANEXO B - PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO ADAPTADO.....	43

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos químicos em pragas ampliou-se em diversos campos, desde o uso agrícola visando proteger as culturas, até a proteção humana contra vetores de estresse e patógenos. Nisso, vale salientar que estes podem possuir atividades herbicidas, inseticidas, fungicidas, bactericidas, acaricidas e rodenticidas como métodos de controle (SCHIESARI, 2012).

No entanto, a utilização excessiva desses produtos podem acarretar danos irreparáveis ao ser humano e ao meio ambiente. Destacam-se a poluição de lagos e rios, além da atmosfera com a emissão dos gases contribuindo assim para comprometimento da camada de ozônio, bem como promover intoxicação quando não há manejo correto (GUINATI *et al.*, 2014). Além disso, alerta-se que espécimes de insetos-pragas vem desenvolvendo resistências ao uso de pesticidas químicos, com isso pesquisas vem sendo realizadas com intuito de promover alternativas menos prejudiciais ao homem e ao meio ambiente (KRINSKI, 2014).

Um projeto que vem sendo adotado, com o objetivo de diminuir o uso excessivo de produtos químicos no combate às pragas é o Manejo Integrado de Pragas (MIP). Ele promove o controle das pragas através do uso de plantas com propriedades repelentes e inseticidas, protegendo-as dos inimigos naturais utilizando produtos seletivos (SANTOS *et al.*, 2018). Ressaltando a riqueza da flora brasileira, torna-se um campo vasto para a pesquisa de materiais vegetais alternativos no controle de espécies prejudiciais ao desenvolvimento das plantas.

A família Annonaceae destaca-se como fonte promissora no desenvolvimento de pesquisas para avaliar o potencial repelente e inseticida de suas espécies vegetais. São árvores encontradas em diversas regiões brasileiras (Nordeste, Centro-oeste e Sul do Brasil). Possuem principio ativo complexo, denominados metabólitos secundários, que são extraídos das folhas e frutos. Eles atuam na intoxicação ou repelência de insetos ou outros herbívoros, protegendo a planta de seres agressores (SAITO, 2004). Alali *et al.* (1999), em suas pesquisas avaliaram as acetogeninas (ACG), como principais substancias tóxicas presentes em alguns gêneros da família, destacando-se *Annona*, *Asimina*, *Rollinia*, *Xilopia*, *Goniothalamus* e *Uvaria*.

No entanto, apesar da diversidade de espécies cientificamente conhecidas, as pesquisas sobre seu controle de pragas são incipientes. Cerca de 2% da família

possuem estudos com relação ao potencial inseticida. É essencial ampliar os experimentos acerca da atuação desses vegetais em insetos praga uma vez que, contribui na sua valorização e um meio alternativo ao uso de produtos químicos (KRINSKI *et al.*, 2014).

A incidência de pragas agrícola e urbana tem se tornado constante com a adaptação dos artrópodes a distintos ambientes. Vários métodos vêm sendo adotados com o intuito de controlar essas pragas, porém, quais são mais viáveis economicamente e ecologicamente? O uso de agrotóxicos e inseticidas sintéticos que requerem manejo adequado são as únicas opções? O uso de produtos botânicos a partir de extratos e óleos essenciais, que minimizariam o uso de produtos químicos poderiam ser uma alternativa ecológica?

As plantas da família Annonaceae, por exemplo, são espécies com grande diversidade no território brasileiro. Estudos científicos tem demonstrado que esses grupos possuem substâncias químicas em suas folhas com potencial toxico contra pragas, especialmente insetos.

Annona muricata é uma das espécies dessa família característica do cerrado, a literatura aponta poucos estudos que especifiquem a toxidade de suas folhas em artrópodes. Com isso, visto que possui potencial inseticida, há uma necessidade de explorá-la e contribuir com o desenvolvimento de pesquisas a cerca dessa planta em particular.

Considerando que os produtos botânicos representam um meio alternativo ao uso de produtos químicos em combate de pragas, a exposição das fases larvais das moscas ao extrato da *Annona muricata*, uma planta apontada pela literatura com grande potencial tóxico em suas folhas, deverá provocar efeitos consistentes nas larvas que variam desde ação repelente, inseticida, retardamento ou até indução a pulpação. Isso deverá ocorrer em dois pontos: com a ingestão ou apenas o odor do extrato (Uma vez que, que suas folhas tem essa característica marcante).

Dentre os grupos de pragas, a *Musca domestica* destaca-se como um dos grupos mais abundantes. Pertencentes à família Muscidae, são seres que tem facilidade de adaptação em ambientes urbanos rurais por serem eusinatrópicos (CAPINERA, 2010). Com isso, a espécie alimenta-se e prolifera-se a partir de substratos contaminados como fezes, restos de alimentos etc., levando ao constantes transportes de patógenos de uma região a outra (KHAMESIPOUR, *et al.* 2018).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial inseticida do extrato hidroalcoólico de *Annona muricata* em larvas de moscas em Pedro II-Piauí.

1.1.2 Objetivos específicos

- Coletar folhas da espécie *Annona muricata*;
- Capturar larvas de moscas utilizando como iscas matéria orgânica a fim de realizar os tratamentos;
- Produzir extrato hidroalcoólico da planta via evaporação em laboratório;
- Realizar bioensaios com as larvas a utilizando extrato da planta, para verificar seu potencial tóxico.

1.2 JUSTIFICATIVA

O uso de produtos de origem vegetal vem se destacando no controle de pragas. As plantas são ricas em substâncias biorreativas que podem ser utilizadas como inseticidas (CORRÊA; SALGADO, 2011). Isso visa proteger a integridade do meio ambiente, bem como do ser humano, pois, isso indica que os extratos vegetais são promissores meios alternativos ao uso de inseticidas e pesticidas sintéticos.

Alalli *et al.* (1999) em seus estudos, destacam que as plantas pertencentes a família Annonaceae, possuem alto potencial pesticida. Ainda concluiu que, embora sejam grupos ecologicamente seguros e que podem ser utilizados em hortas, na ornamentação e no controle de pragas, possuem um elevado poder tóxico na produção de pesticidas.

Embora haja uma grande diversidade de espécies da família Annonaceae, as pesquisas sobre seu potencial fitoinseticida são escassos. É necessário ampliar os estudos sobre os compostos químicos presentes nessas plantas com intuito de avaliar e confirmar seu potencial citotóxico, larvicida e inseticida (KRINSKI *et al.*, 2014).

Com isso, tentar desenvolver métodos eficazes e biodegradáveis a partir de plantas com potencial repelente no controle de insetos é essencial, visto que regiões com riquezas florestais como o Brasil requer pesquisas que valorize o uso de produtos a base de vegetais, visando diminuir o uso de produtos químicos.

Annona muricata, conhecida popularmente como graviola, é uma das espécies dessa família muito cultivada no município de Pedro II no estado do Piauí. Nesse município verifica-se uma grande incidência de moscas, pragas consideradas vetores de doenças. Diante da possibilidade de seu efeito inseticida e por ser uma planta característica da região, é necessário realizar pesquisas sobre o potencial de toxicidade dos extratos produzidos pela *A. muricata*, uma vez que, é importante valorizar o uso de produtos a base de plantas, os quais minimizam o uso de inseticidas sintéticos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRAGAS URBANAS: MOSCAS

As pragas atingem não apenas o setor agrícola mas também o ambiente urbano. Grande partes dos insetos são atraídos pelo lixo, ou resto de alimentos, e muitos podem ser patogênicos ou causar danos à saúde. Moscas, mosquito, barata, carrapato e escorpião são os principais artrópodes encontrados na zona urbana(SILVA *et al.*, 2003;SANTO *et al.*, 2016).

As moscas são artrópodes sinatrópicos da classe Insecta e ordem Díptera, que tem facilidade de se desenvolver a partir de atividades antrópicas que variam desde lixos produzidos frequentemente em zona urbana, como na agricultura quanto ao manejo e cuidado com animais domésticos (BARNES *et al.*, 1995; BRITO *et al.*, 2008). Algumas espécies se destacam como *Chrisomya spp*, *Musca domestica*, *Lucilia spp* e espécies as ligadas ao a animais domésticos herbívoros produtoras de Miíases como *Cochliomyia hominivorax* (BRITO *et al.*, 2008). Geralmente, possuem metamorfose completa com 4 estágios larvais: ovos, larva, pulpa e adulto (ORTIZ *et al.*, 2011). São espécies cosmopolitas, transmitindo mais de 60 grupos de patógenos humanos. Elas possuem grande facilidade de adaptação, reprodução, além de terem fácil acesso aos alimentos tornando-se incômodas em diversos níveis sociais (ZORZENON, 2002).

Santos (2005) relaciona o aumento de mortalidade infantil por diarreia à proliferação e reprodução das moscas, em ambientes sem saneamento. Além disso, Cardozo *et al.* (2005), ao realizar ensaio com espécimes de moscas concluiu que se estas estiverem presentes na fabricação de produtos lácteos (queijo), podendo ser transmissores de patógenos no produto, tais como *mesofílicas*, *coliformes fecais*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Brito *et al* (2008) relata a importância de utilização de medidas sanitárias adequadas por serem espécies com ação patológicas principalmente na produção de Miíases, hematófagos ou forese.

2.2 DEFENSIVOS QUÍMICOS

Os defensivos químicos são substâncias que tem o intuito de promover a proteção agrícola contra pragas e doenças, atuando como agente herbicida, fungicida, inseticida e acaricida. São responsáveis por causar cerca de 40% dos

danos à produção vegetal (RODRIGUES;MANARIM, 2011), bem como transtornos e alterações na natureza, através da contaminação das comunidades bióticas e abióticas (água, ar e solo) (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Os herbicidas são substâncias químicas que podem matar ou suprimir espécimes de plantas daninhas, através da ação inibitória de enzimas pelo contato com as folhas das plantas. Os fungos vem se destacando como promissores agentes herbicidas (ROMAN, 2007).

Os inseticidas geralmente agem provocando perturbações digestivas e ação tóxica em distintos órgãos, essencialmente sobre o sistema nervoso central dos insetos. Além disso, também são tóxicos para a maioria dos animais, inclusive o homem (MOREIRA *et. al*, 2012). O efeito tóxico que esses produtos podem causar na natureza despertam a necessidade do uso de formas alternativas de combate a pragas no setor agrícola.

2.3 EXTRATOS BOTÂNICOS

Os extratos vegetais são produtos botânicos com ampla aplicabilidade. Eles podem ser utilizados no manejo de pragas, visando reduzir as doses ou aplicações de inseticidas químicos sintéticos, que prejudicam o meio ambiente (MACHADO *et. al.*, 2007). Segundo *Food Ingredients Brasil* (2010) há uma gama de utilidades dos extratos que variam desde a prevenção de patologias, como na indústria alimentícia, além de fabricação de químicos contra pragas utilizando métodos alcoólicos ou aquoso, na qual são obtidos em formas concentradas ou secas.

Experimentos com princípios ativos de plantas com potenciais inseticidas e repelentes vêm se destacando na botânica. Acredita-se que o uso de extratos vegetais tornou-se um método mais benéfico, pois somente atuam nas espécies alvos, são biodegradáveis, não causam danos ambientais e reduzem a liberação de resíduos (CHAGAS, 2004). O conhecimento etnobotânico tem exercido forte contribuição para o desenvolvimento de pesquisas sobre os princípios ativos dos vegetais.

2.3.1 Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários compreendem princípios ativos com ação venenosa ou indigesta que protegem e defendem a planta contra agentes invasores.

Podem atuar ainda como pesticidas naturais contra patógenos (GARCÍA;CARRIL, 2011). Terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados são os principais representantes dos grupos de metabólitos secundários vegetais (TAIZ;ZEIGER, 2004). Esses compostos, tem sido investigados quanto a produção de fármacos, através de ensaios *in vitro*, pois, possuem moléculas com uso na profilaxia e tratamento de patologias (CHAVES, 2010).

Jardim (2005) realizou pesquisas com habitantes de Maiandeuá, no Pará, a fim de avaliar o uso fitoterápico de plantas a partir de seus metabólitos produzidos (Figura 1). Verificou-se que o potencial químico dos metabólitos produzidos pelas plantas além da ação pesticida e inseticida podia ser utilizado para fins medicinais.

Quadro 1 - Usos medicinais de metabólitos secundários em espécies da Ilha de Algodoal, município de Maracanã, Estado do Pará

Cajueiro, caju da praia	Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Chá - folhas para diarreia, inflamação da garganta e aftas, sendo também utilizado como antihemorrágico	Alcalóides, Taninos, Saponinas, Esteróides, Triterpenóides e Antraquinonas
Fruta do Pombo; tapiriri; tatapiririca; maria preta e pau pombo	Anacardiaceae	<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Chá - folhas como xarope com a função de expectorante	Taninos, Flavonóides, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides
Cipó de folha dura	Bignoniaceae	<i>Paragonia pyramidata</i> (L. Rich.) DC.	Chá - folhas como antiinflamatório	Alcalóides, Taninos, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides
Sete-sangrias; jasmim da praia	Borraginaceae	<i>Heliotropium polyphyllum</i> Lehm.	Chá - folhas usadas como depurativo do sangue, diurética, reumatismo e anemia	Taninos, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides
Breu Branco verdadeiro	Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March.	Chá - folhas contra úlceras e inflamações	Alcalóides, Taninos, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides
Ajuru, Ajiru, Ajuru Branco, Cajuru, Icaco, Maçazinha-da-praia	Chrysobalanaceae	<i>Chrysobalanus icaco</i> L.	Chá - folhas usadas no tratamento de leucorréia, diarreia e diabetes	Alcalóides, Flavonóides, Taninos e Saponinas
Apui, apui grande, cebola grande da mata, mata-pau	Clusiaceae	<i>Clusia grandiflora</i> Spligz.	Chá - folhas usadas como diurético e antiemético	Alcalóides, Taninos e Triterpenóides
Canapaúba; mangle-amarelo mangle-rasteiro e tinteiro	Combretaceae	<i>Laguncularia racemosa</i> Gaertn.	Chá - folhas usadas como antidiarreico	Taninos, Flavonóides, Esteróides e Triterpenóides
Mangle bolota; manguinho; mangle	Combretaceae	<i>Conocarpus erectus</i> L.	Chá - folhas usadas contra afecções catarrais e contra hemorroidas	Taninos, Flavonóides, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides
Salsa, salsa da praia	Convolvulaceae	<i>Ipomoea pes-caprae</i> Rottb.	Chá - folhas usadas como emoliente e depurativo	Taninos, Flavonóides, Esteróides e Triterpenóides
Campinha branca, cipó da praia, salsa da praia	Convolvulaceae	<i>Ipomoea imperatii</i> (Vahl.) Griseb.	Chá - folhas usadas como antihidrópicas	Flavonóides, Taninos e Saponinas
Verônica branca; verônica e verônica do brejo	Leguminosae-Faboideae	<i>Dalbergia ecastophylla</i> (L.) Taub.	Chá - folhas utilizadas no combate a anemia e inflamações uterinas	Taninos, Flavonóides, Saponinas, Esteróides, Triterpenóides e Antraquinonas
Muruci; mirici; do campo; muruci da praia	Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> H.B.K.	Chá - folhas utilizadas como adstringente, fortificante, febrífugo e no combate à tuberculose	Flavonóides, Taninos, Saponinas, Esteróides e Triterpenóides

Figura 1. Fonte: Jardim (2005)

Estrada et al. (2000), relatam que o uso de extratos ou óleos essenciais extraídos de *Rosmarinus officinales*, *Ocimum basilicum*, *Aloe vera*, *Lippia alba* são eficientes contra patógenos, essencialmente fungos. Além disso, Aquino et al.

(2017), verificaram que extratos compostos principalmente de flavonóides e taninos, apresentaram eficácia nas análises sobre o potencial antioxidante de metabólitos secundários de espécimes

2.5 FAMÍLIA ANNONACEAE

As Anonáceas compreendem plantas frutíferas com grande importância econômica em vários países como Venezuela, Chile e Brasil, sendo composta de 112 gêneros e 2.440 espécies (COUVREUR *et al.* 2011). No Brasil, seu cultivo destacou-se no Nordeste, principalmente nas regiões semiáridas, com destaque para a Bahia, Pernambuco e Alagoas, cujo possuem alto valor no mercado principalmente as frutas antemoia e a pinha (SOBRINHO, 2010).

São caracterizadas por arbustos com árvores andróginas, solitárias ou em florescência, com frutos sincárpico ou apocárpico, podendo ser deiscentes ou indeiscentes (PONTES *et al.*, 2004).

Estudos indicam que diversas plantas pertencentes a família, tem grande utilização fitoterápica na medicina popular por possuírem potenciais farmacológicos, devido seus metabólitos secundários, com destaque as acetogeninas (FORMAGIO *et al.*, 2010). Allali *et al.* (1999), relatam em suas pesquisas, que a ação das acetogeninas surtem um efeito inseticida, atuando nas mitocôndrias, inibindo o NADH e causando sua morte. Paes (2016), analisando o potencial citotóxico de 191 acetogeninas, concluiu que o gênero *Annona* é um promissor agente citotóxico *in vitro* de células neoplásticas humanas.

Algumas espécies de Anonáceas tem demonstrado serem promissoras no controle do inseto-praga, uma vez que, extratos etanólicos produzidas evidenciaram alguma ação inseticida (SAITO, 1989). Os extratos são extraído de diversos componentes da planta, por exemplo em *Annona dioica* folha e fruto, na *Annona squamosa* as sementes, na *Duguetia furfuracea* folha e fruto, na *Rollinia sylvatica* caule e fruto, na *Xylopia aromática* e partes aéreas de *Xylopia brasiliensis*. Isman e Seffrin (2014) acrescentam *Asimina triloba* e *Annona muricata* como espécies em estudo para fins inseticidas em seres de ordem díptera.

A partir de testes realizados com extratos da espécie *Annona squamosa* da família Annonaceae, foi indicado ação inseticida em estágios larvais de lagartas *Ascia monuste Orseis* (ROCHA, 2018). Outros experimentos com *Annona mucosa*

indicaram sua atuação em espécimes de *Euschistus heros* (percevejo-marrom) onde são letais em ninfas adultas e afetam o ciclo reprodutivo das fêmeas (TURCHEN, 2016).

A aplicação de extratos hidroalcóolicos contra espécimes de *Brevicoryne brassicae* (pulgão da couve) a partir de folhas de *Annona Muricata*, resultaram em efeitos inseticidas na espécie (SILVA et. al., 2018). Análises do óleo essencial de *Xylopia aromática* em experimentos laboratoriais, demonstraram sua ação repelente contra espécies de *Sitotroga cerealella* (espécie de traça)(BRAGA, 2015).

2.5.1 O gênero *Annona*

Annona destaca-se na família Annonaceae como o gênero de maior interesse comercial. Composto de 118 espécies, das quais 108 são nativas da América e 10 da África (SILVA et al., 2017). Dentre seus representantes, alguns frutos como a pinha, ata, cherimólia, marolo, fruta de conde, pinha-azeda, graviola e condessa se destacam por seu cultivo (KILL, 2003).

Detentor de alto grau de metabólitos secundários (flavonoides, esteroides, alcaloides e principalmente acetogeninas) tornou-se objeto de estudo devido a presença das acetogeninas (ACGS) (FANG et al, 1993). De Almeida e Dos Santos (2018) relataram que os flavonoides são as substâncias mais características das espécies da família do gênero *Annona*.

Experimentos em bioensaios, a partir da aplicação de dosagens de extratos de *Annona atemoya*, comprovaram seu potencial inseticida ao provocarem a morte de espécimes de lagartas (*Anticarsia gemmantalis*)(GORRI et al., 2018). Ensaios utilizando extratos da mesma espécie resultaram em efeitos tóxicos em lagartas *Ascia monuste Orseis*, com redução considerável de suas populações (SANTOS, 2018).

Já análises com *Annona muricata* indicaram potencial citotóxico antiviral contra a dengue pelo uso de extrato aquoso da espécie (WAHABI, 2018). Rodrigues (2015) em seus experimentos laboratoriais confirmou alto teor tóxico de extratos hexânicos de sementes da planta em concentração 0,5%, em espécies de pulgão-preto (*Aphis cracivora*) de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*).

A *Annona muricata* possui em seus óleos essenciais, grande potencial para uso na produção de fármacos devido suas acetogeninas, assim como na produção

de inseticidas a partir da utilização de seus extratos, porém pouco se sabe de sua atuação efetiva sobre pragas (MOGHADAMTOUSI, 2015; SILVA, 2017; SANTOS, 2018).

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

A obtenção do material vegetal foi realizada manualmente na escola filantrópica Ecoescola Thomas A Kempis (Figura 2), localizada na Rua Thomás Café, Sítio Revedor, Zona Rural em Pedro II-PI, aproximadamente 3,2 km da cidade, latitude e longitude -4.406851, -41.453380. A identificação da planta, a partir de pesquisas bibliográficas realizadas por Cavalcante,(1972) e Calvazara e Muller (1987), comparando a espécie às características literárias apresentadas. A produção do extrato, bem como os bioensaios foram realizados no laboratório de Ciência e Química do Instituto Federal do Piauí, campus Pedro II.

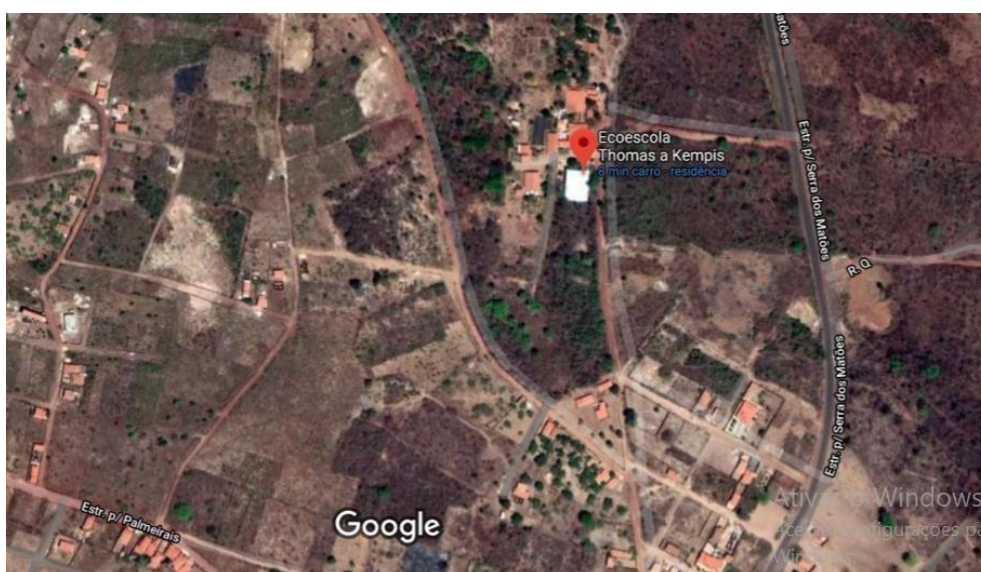


Figura 2- Região de coleta das folhas da planta (Ecoescola Thomas A Kempis), obtidas do Google Mapas (2020).

3.2 EXTRATO HIDROALCÓOLICO

Após a coleta manual, as folhas foram higienizadas com água (lavagem) e levadas à estufa para secagem em circulação de ar a 60° por 48 horas. Depois de secas, as folhas foram trituradas em um liquidificador consistindo em um peso de 9,08g de pó e posteriormente colocadas em um Béquer totalmente fechado e deixado em ambiente escuro (armário) por cerca de 6 dias, segundo Padrão de Extratos Hidroalcoólicos (EAPs) utilizadas por Furtado (2006). Após esse período, seu pó foi colocado em etanol 50% produzindo 200ml, em seguida colocado em banho-maria a 60° em um período de 60 minutos com auxílio de termômetro para

controle. Após isso, ainda quente, foi utilizado filtro de algodão na sua filtragem e para evaporação do solvente produzindo 165ml, levadas à estufa à 40° para atingirem peso constante. Por fim o extrato bruto foi solubilizado em água destilada resultando em 150ml (Figura 3), suas concentrações forma distribuídas em 100% (30ml), 50% (15 ml), 25% (7,5 ml) e 12,5 % (3, 75 ml) e concentrações de 12,5% (água e álcool), de testemunho para realização dos bioensaios (DE PINHO, 2012).

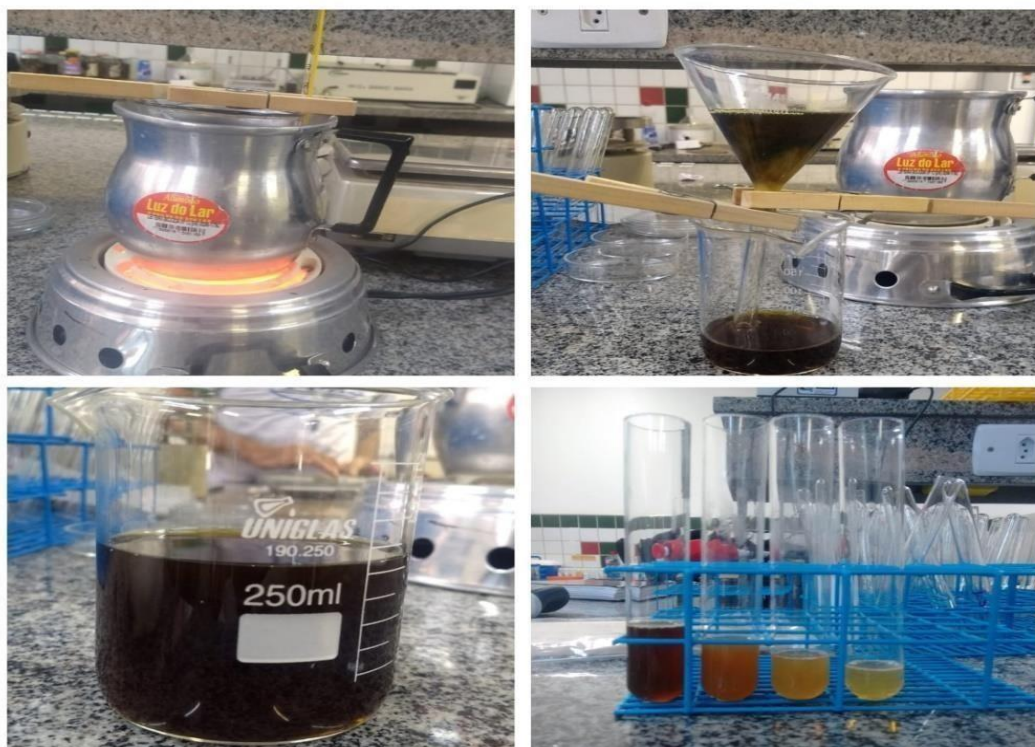


Figura 3- Fases de elaboração do extrato. 1) Extrato em banho-maria. 2) Processo de filtração. 3) Extrato filtrado. 4) Distribuição das concentrações em tubos de ensaio (AUTORAI, 2019).

3.3 OBTENÇÃO DAS LARVAS DAS MOSCAS

Para obtenção das larvas, foram utilizadas 100g de iscas de carne moída, estas foram colocadas em um recipiente de isopor aberto forrados com algodão para manter umidade, na residência do autor localizado na Rua Antônio Carlos Uchôa Bairro Santa Fé, Pedro II-PI, latitude -4.420073 e longitude -41.456657, a 5m da casa no quintal (Figura 4) em altura baixa, local onde o lixo é armazenado para coleta municipal e ambiente de maior presença das espécies. Deixou-se exposto a matéria orgânica entre 10:00 horas da manhã até as 16:00 da tarde por cerca de 4 dias, período para desenvolvimento das larvas. Após esse período, o material foi destinado ao laboratório de Biologia do IFPI *Campus* Pedro II, a fim de verificar as

larvas e/ou ovos das espécies depositados (Figura 5 e 6). Após essas análises, foram separadas cerca de 35 larvas das espécies ressaltando-se que estas apresentavam-se em 3 estágios larvais (L1, L2 e L3).

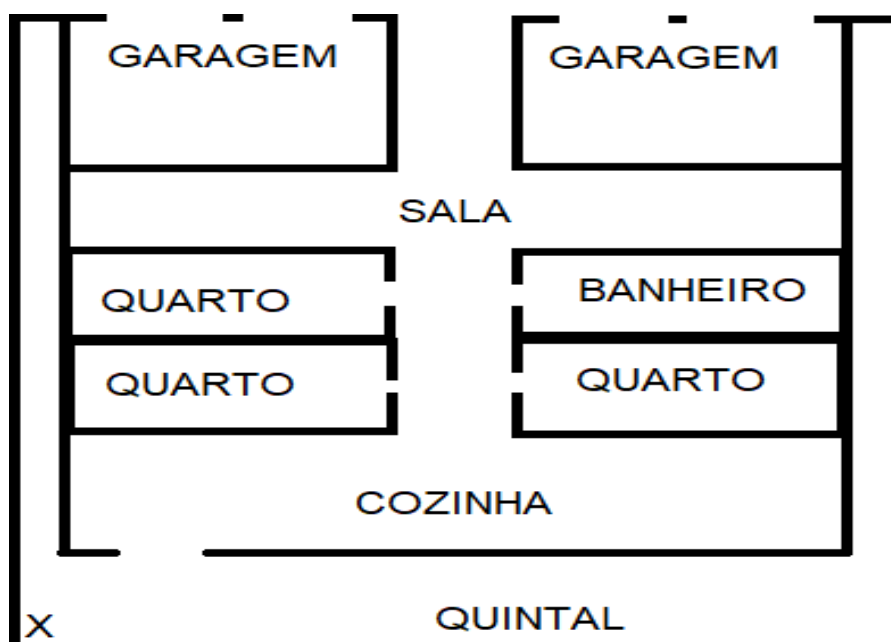


Figura 4- Representação do local de aplicação das armadilhas (X) para captura das larvas e adultas das moscas (AUTORAL, 2019).



Figura 5- Representação da armadilha para as larvas (a) e a coleta das larvas depositadas na armadilha (b), no laboratório de Ciência e Química do IFPI-Pedro II (AUTORAL, 2019).



Figura 6- Larvas encontradas na armadilha (AUTORAL, 2019).

3.4 REALIZAÇÃO DOS BIOENSAIOS

O extrato produzido foi separado em tubos de ensaios em concentrações anteriormente comentadas e as larvas distribuídas em 5 placas de Petri, cada placa revestida com algodão e 7 larvas com as espécies mescladas. Cada Placa recebeu uma porcentagem (%) de concentração de extrato na ordem 100%, 50%, 25%, 12,5% e um grupo testemunha (Figura 7). Para o ensaio, realizou-se pipetagens nas espécies e observações após 5 min, 10 min, 30 min, 40 min, 1hora, 6horas, 24 horas e análises se houve grau de resistência após esses períodos. Para isso, observações a olho nu (comportamento das espécies) e auxílio da lupa na observação das larvas.

Para avaliação do potencial repelente nas primeiras 24 horas após a aplicação do extrato foram realizadas observações a olho nu e o teste *T student* através do programa *BioEstat 5.3* com significância ($p < 5\%$) a partir do comportamento larval levando em consideração a hipótese:

H_0 = O extrato não repeliu as larvas durante as primeiras 24 horas de aplicação;

H_1 = O extrato repeliu as larvas nas durante as primeiras 24 horas de aplicação

Para análises do potencial inseticida foi utilizada a fórmula de ABBOTT (1925), para medir a percentagem de eficiência no controle de insetos-praga em um período de 4 dias:

$$Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100$$

Pela fórmula, Mc = Mortalidade corrigida, Mo = Mortalidade observada, Mt = Mortalidade na testemunha, onde os insetos foram ajustados em escalas de mortalidade S para seletivos (0-20), B para toxicidade baixas (21% a 40%) e A (alta toxicidade (60%>) de acordo com o Art. 27 das Normas para avaliação e indicação de inseticidas.

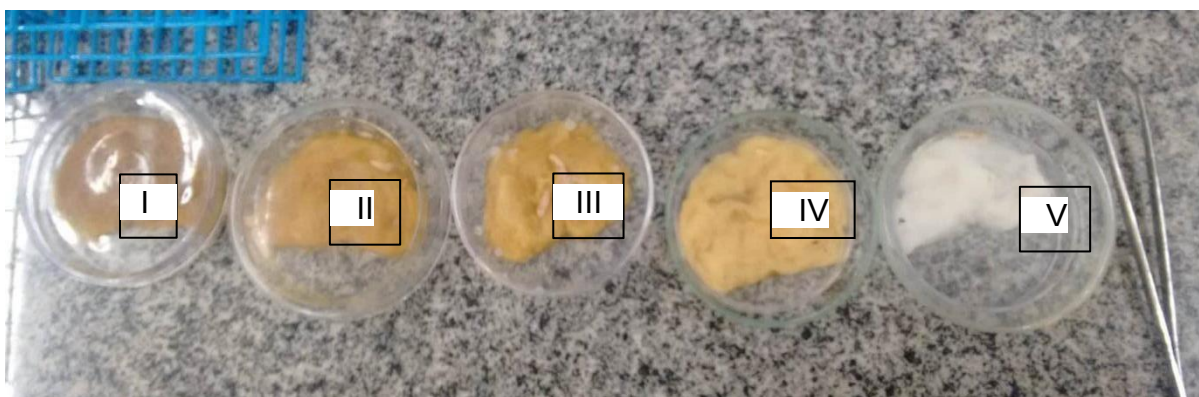


Figura 7- Distribuição do extrato nas amostras de larvas. I- em 100%; II- 50%; III- 30%; IV- 15%; V- Grupo testemunha (AUTORAL 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As observações realizadas no ensaio durante os primeiros 5 minutos, após realização de ensaio com 10ml foi observado desconforto larval nas placas com concentrações 100% e 50% do extrato (Figura 8) . Nisso, cerca de 29% das larvas em cada placa apresentaram-se fora do algodão submerso ao extrato e, assim como as demais, apresentaram significativo grau de agitação. Nos demais tratamentos, não houve significativas mudanças comportamentais (Figura 8). Corrêa e salgado (2011) afirmaram que tais comportamentos em indivíduos em contato com extratos botânicos, pode ser explicado por processo de repelências, onde estes geram incômodos em seus sistemas sensoriais, principalmente em quimiorreceptores de insetos.



Figura 8- Comportamento larval após 5 minutos de aplicação do extrato hidroalcoólico nos tratamentos I e II, os quais apresentaram maior grau de agitação (AUTORAL, 2019).

Após 15 minutos, cerca de 85% das larvas da placa 2 estavam fora do algodão, ressaltando que algumas indicaram alto grau de desconforto, direcionando-se para fora da placa. Pode-se observar isso na placa 1 também, porém em menor grau. Nas demais placas, as larvas estavam inseridas dentro do algodão sem nenhum desconforto aparente (Figura 9) .

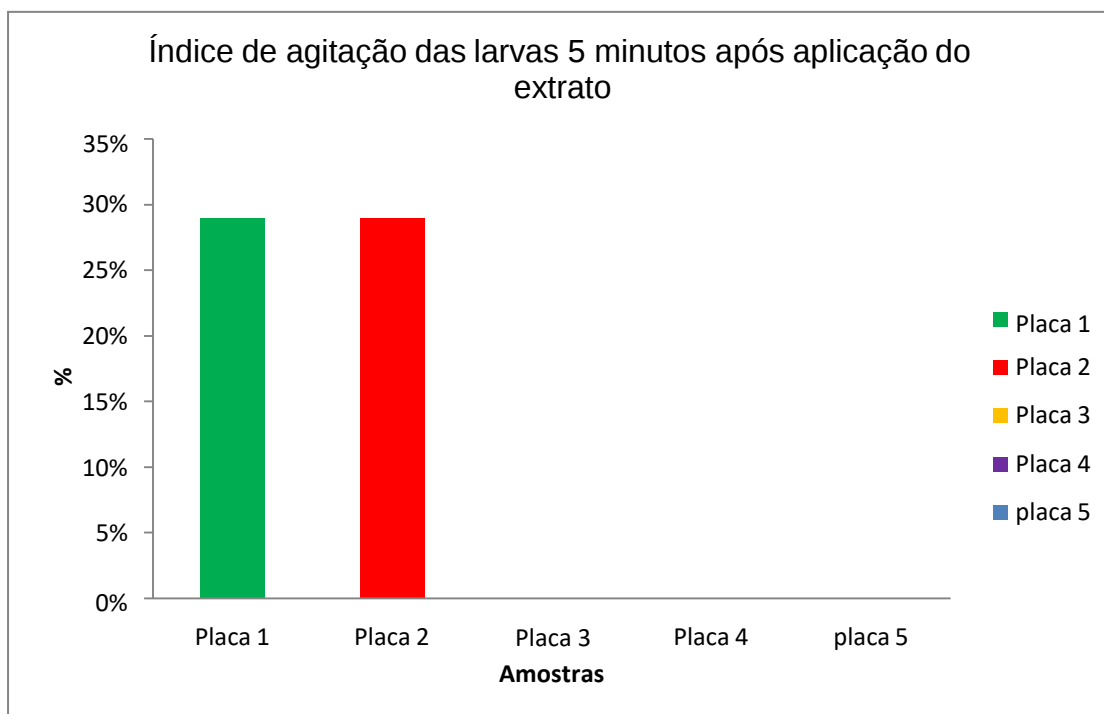


Figura 9- Fonte: (AUTORAL, 2020).

Entre o período de 30 e 40 min, a placa 2 apresentou cerca de 85% de suas larvas com considerável grau de agitação, o qual algumas destas buscavam deslocar-se para fora da Placa, assim como na placa 3, e 4 onde isso também foi visível, com 57% de suas amostras. Na placa 1, houve média agitação e no grupo testemunho nenhum (Figura 10).

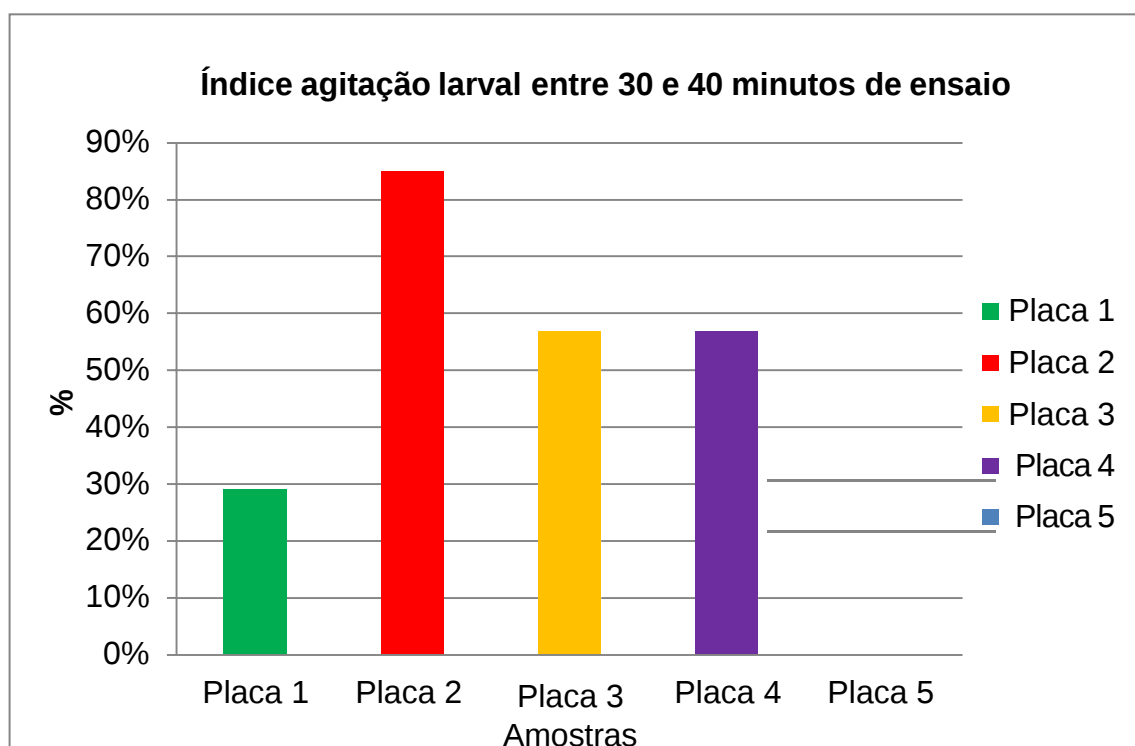


Figura 10- Fonte: (AUTORAL, 2020).

Santos e Melo (2010), relatam que os alcaloides são um dos principais metabólitos presentes em folhas de *Annona muricata* que podem provocar repelência em animais principalmente por apresentarem gosto amargo, podendo ser um das substâncias químicas responsáveis pelo desconforto das larvas no presente trabalho.

O ápice de desconforto das larvas nas placas, ocorreu após 1 hora de ensaio o qual cada placa foi tratada com 20ml totalizados das concentrações produzidas. Verificou-se que as placas 1 e 2 destacaram-se novamente com altíssimo incômodo a presença do extrato. A placa 3 e 4 apresentaram pequeno grau de agitação e o grupo testemunho manteve-se sem nenhum grau de agitação (Figura .11)

Quadro 1- Comportamento larval observado em até 6 horas de aplicação do extrato

Período	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5
5 minutos	Pequeno grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Nenhum grau de agitação	Nenhum grau de agitação	Nenhuma agitação
30 minutos	Grau médio de agitação	Alto grau de agitação	Grau médio de agitação	Grau médio de Agitação	Nenhuma agitação
40 minutos	Alto grau de agitação	Alto grau de agitação	Grau médio de agitação	Pequeno grau de agitação	Nenhuma agitação
1 hora	Alto grau de agitação	Alto grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Nenhuma agitação

6 horas	Pequeno grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Pequeno grau de agitação	Nenhuma agitação

Figura 11. Fonte: (AUTORAL 2020),

A partir de 6 horas indicadas no quadro, com aplicação de mais 10ml totalizando 30ml ao todo, as larvas apresentaram baixa grau de agitação em todas as placas. O grau de desconforto larval deve-se a estímulos de repelência que leva ao animal fugir do ambiente que está sujeito a uma substância química nociva a ele (DETHIER *et al.*, 1960; SCHRECK, 1977). A figura 12 demonstra comportamentos larvais em distintos momentos durante o primeiro dia de ensaio em até 6 horas de aplicação, sendo que, foi notório que em distintas concentrações, em algum momento, houve desconforto das larvas tratadas ressaltando que, no grupo controle estas mantiveram baixíssimo grau de excitação, em sua grande maioria nenhum.

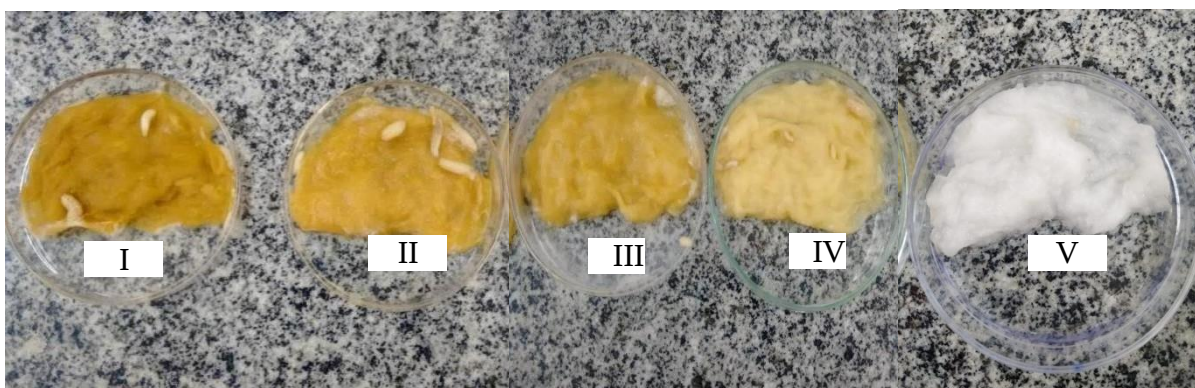


Figura 12- comportamento em diferentes momentos do tratamento em até 6 horas de aplicação do extrato. I (100%), II (50%), III (25%), IV (12,5%) e V (testemunho). Fonte: (AUTORAL, 2020),

A figura 13 demonstra que apenas após 24 horas de tratamento, a placa III apresentou uma maior desconforto larval, indicando que estas sentiram-se desconfortáveis após o contato, aproximadamente 7,5ml do extrato a 25%. Na placa I, apenas 1 larva estava fora do tratamento a 100% (30ml) de extrato, a placa II apresentou 3 larvas fora do tratamento a 50% (15ml), a placa IV apenas 2 larvas manifestaram-se fora da placa a 12,5% (3,75ml) de extrato, e o grupo testemunha nenhuma larva demonstrou-se fora do tratamento.

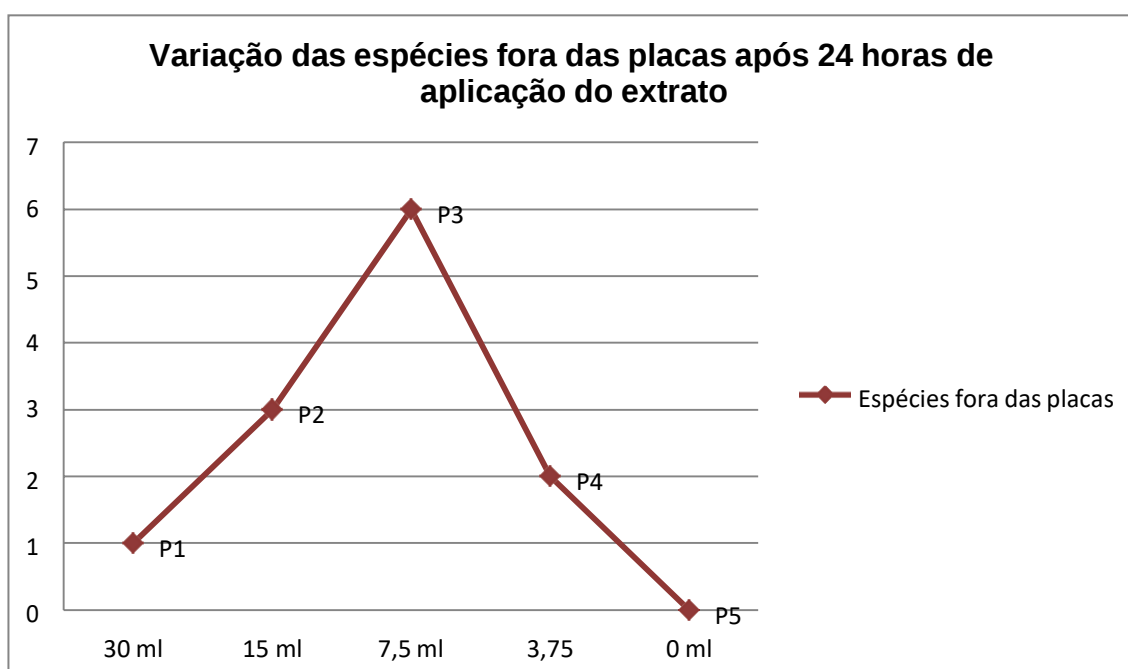


Figura 13- Fonte: (AUTORAL, 2020)

Vale ressaltar que, as larvas apresentavam comportamento com pouco sinal de agitação, assim como nas demais placas com larvas fora do algodão. Extratos produzidos da espécie *Lippia siddoides* da família Verbenaceae também demonstraram resultado significativo em larvas de espécies de moscas, afetando também seus estágios de pupa (MELO, 2014).

Submetendo as amostras ao Test t, verificou-se graus de significância $p < 5\%$ em 3 dos 4 tratamentos em relação ao controle nas primeiras 24 horas (Tabela 1). O tratamento 1 (P1) rejeitou a hipótese nula (H_0) ao obter $T=4.381$ em um $T_{cb} = 2.570$ e $p= 0.007$. O tratamento 2 (P2) também rejeitou H_0 ao obter $T=3.560$ em um $T_{cb} = 2.776$ e $p= 0.023$. O tratamento 3 (P3) aceitou H_0 ao obter $T= 2.501$ em um $T_{cb}= 2.776$ e $p=0.066$. Já o tratamento 4 (P4) rejeitou H_0 ao obter $T= 3.086$ em um $T_{cb}= 2.570$ e $p=0.027$.

Tabela 1 - Taxas de repelência das larvas durante as primeiras 24 horas submetidas ao Test t

Tratamentos	Pbicaudal	Tcbicaudal	Test t
P1 x controle	0.007	2.570	4.381
P2 x controle	0.023	2.776	3.560

P3 x controle	0.066	2.776	2.501
P4 x controle	0.027	2.570	3.086

p= significância; Tc= T crítico. Fonte: (AUTORAL 2020).

Estudos com óleos de sementes de andiroba (*Carapa guianensis*) apontaram interferência na fase de pulpa de espécies de *Musca doméstica* impedindo seu desenvolvimento adulto (FARIAS, 2009), fato que não foi identificado com *A. muricata* no presente trabalho, pois, as espécies larvais estudadas não atingiram essa fase durante os ensaios.

A tabela 2 apresenta as taxas de mortalidades (%), durante quatro dias do ensaio. Pode-se verificar que o maior grau de mortalidade ocorreu entre 3° e o 4° dia. Vale ressaltar que todas as larvas submetidas as placas em concentrações 100%, 50% do extrato obtiveram mortes totais após quatro dias, já nas placas 3 e 4 houve mortes de 85% espécies cada, o qual, apenas uma única espécie em cada placa apresentou resistência, o grupo testemunho obteve cerca de 57% de sobreviventes.

Tabela 2 - Taxas de mortalidade das larvas tratadas com 60 ml das concentrações

Dias	Placa 1 (100%)	Placa 2 (50%)	Placa 3 (25%)	Placa 4 (12,5%)	Placa 5 Testemunho
1 dia	0	0	0	0	0
2 dia	2	2	1	1	0
3 dia	3	2	1	1	1
4 dia	2	3	4	4	2
Total	7	7	6	6	3

Fonte:(AUTORAL, 2020)

Tal estudo não coincidiu com a probabilidade das espécies larvais vivas submetidas a extratos botânicos realizados por Govindarajan (2010), o qual afirma que pode haver índices de espécies sobreviventes que acelerem processos de pupação, acarretando no desenvolvimento de adultos deformados. Alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenos, taninos são algumas das substâncias tóxicas

identificadas nos extratos etanoicos da folha da planta que promovem efeitos nocivos adversos nos indivíduos que ingerem (ALALI *et. al*, 1999; UBULOM, *et al*. 2019). Ainda assim acredita-se que as acetogeninas são as principais substâncias encontradas na espécie de grande interesse em estudos tanto de controle inseto-praga como ação antitumorais, antimalárica, antimicrobiana (ALALI *et. al*, 1999).

A figura 14 apresenta as variações que ocorrem durante os quatros dias de exposição das larvas a distintas concentrações. Nota-se que o pico de mortalidades ocorreu no quarto dia em exposição a 60ml das concentrações. No primeiro dia, não houve mortes significativas em nenhum tratamento, após isso, manteve-se grau de crescimento principalmente nos grupos em exposição a 100% e 50% do extrato. Com relação as concentrações em 25% e 12,5%, o maior índice ocorreu somente após o 4º dia, já o grupo controle manteve o maior número de espécies vivas.

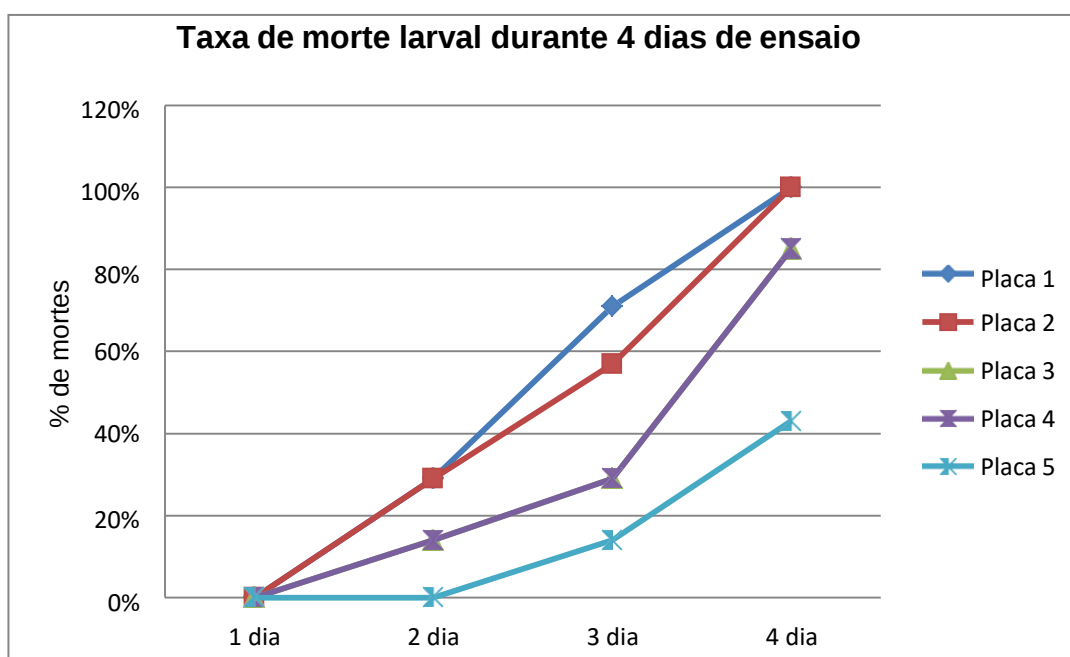


Figura 14- Fonte: (AUTORAL 2020).

Rodrigues *et al.* (2019), encontrou significativa ação larvicida no controle de *Aedes. aegypti* e *Aedes albopictus*, principalmente pela suas acetogeninas, indicando sua eficácia para desenvolvimento de produtos no controle das espécies. Estudos com outras espécies tais como *Annona Mucosa*, *Annona Classiflora* e *Annona Coriacea* também resultaram em alta atividade larvicida em larvas de *A. aegypti*. Freitas (2008), ao realizar testes com extratos aquosos de *Melia azedarach*

(Meliaceae), indicou estratégico o uso do espécime no controle de *Musca domestica*. Segundo Klauck (2018) óleos essenciais produzidos pelas espécies *Citrus bergamia*, *Cymbopogon martini*, *Vetiveria zizanioides* e *Juniperus virginiana* apresentam atividade inseticida em espécies de *Musca domestica*.

Na avaliação do percentual de eficiência (Figura 13), no controle de insetos praga pela fórmula de ABOOTT, verificou-se que no primeiro dia, as placas mantiveram índice de eficiência em 0%, fato que repetiu-se no 2º dia com um total de 17% de mortes. Após três dias indicou índice de 37% de eficiência e apenas após quatro dias obteve-se o maior grau de eficiência de mortalidade com taxa de 67% das espécies (Figura 15).

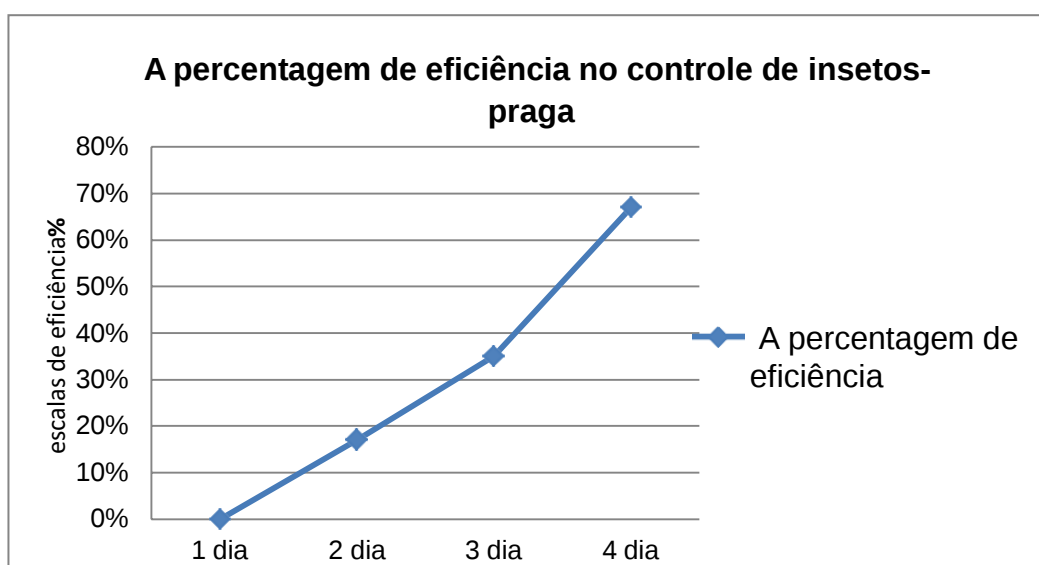


Figura 15- Fonte: (AUTORAL, 2020).

Testes com ação larvicida realizados em espécies do gênero *Anopheles* também indicaram efeito significativo para *Annona muricata* (MORALES, et al. 2004). Já em testes realizados em pulgões com extratos da planta, apontou-se que suas sementes possuem alto teor tóxico, maior que em suas folhas, no entanto, seus metabólitos estão distribuídos em todas as partes da planta (RODRIGUES; 2000; LIMA, 2014). Giglioti et al. (2009) obteve em seus estudos, morte de 87% de larvas de *Cochliomyia hominivorax* utilizando extratos de *Carapa guianensis* e cerca 60% de efetividade com extratos de *Cymbopogon schoenanthus*. Já estudos com *Azadiractha indica* e *Melia Azedarach* apontaram ação larvicida em *Anastrepha*

fraterculus, diminuindo a postura das espécies e morte das larvas antes de atingir pulpação (SALLES;RECH, 1999) fato que coincidiu com o presente trabalho.

Pode-se notar que durante o primeiro e segundo dia, o índice de eficiência apontou um potencial de toxicidade em escalas (seletiva) o qual não atingiu valores acima de 20%. O 3º dia também não apontou valores significativos para o teor de toxicidade, apontando escala B (baixa toxicidade) com valores abaixo de 40%. Somente após o 4º dia apresentou valores que ultrapassaram os 60% aceitos que indicam um alto teor tóxico em estudos realizados com extratos etanoicos de folhas eastes de *A. muricata* resultaram em 63-74% de morte em larvas de *Anastrepha luden* após 72 horas de aplicação (GONZÁLEZ-ESQUINCA, 2012). Abubakar *et al.* (2014) ao realizar testes com extratos aquosos da planta, obteve morte significativa em larvas de *Aedes aegypti*, onde através de análises com Cromatografia gasosa e espectro de massa indicou que composto de Metil ester do ácido hexadecôico eram principais componentes presentes na folha, sinalizando que este possa ser o composto que provocou as mortes de larvas no presente trabalho. Efeitos larvicidas também foram encontrados em extratos das cascas em *Aedes aegypti* (EZEMUOKA, 2019). Algumas das espécies mortas, apresentaram alguma coloração escura em regiões corporais (Figura 16), Trindade *et al.* (2011) em suas pesquisas com a espécie em larvas de *Plutella xylostella*, relatando que isso pode ser explicado por reações provocadas pelos metabólitos da planta no sistema hormonal do inseto, levando a aberrações morfológicas.



Figura 16- Representação de larvas sobreviventes dentro do algodão (a) e todas espécies mortas em um dos tratamentos após 4º dias (b)(AUTORAL, 2019).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conteúdo trabalhado envolveu uma análise da toxicidade de *Annona muricata* em larvas de moscas, buscando trazer uma contribuição do estudo desta planta ainda pouco explorada, bem como para valorização da fauna local quanto ao uso em benefício humano e manutenção da espécie usufruindo de forma sustentável seu uso.

Verificou-se que o extrato hidroalcoólico da planta indicou maior eficiência para fins repelentes, pois, exceto o tratamento a 25%, as demais concentrações rejeitaram H_0 com IC (Índice de Confiança) 95%. A ação larvicida também foi notória, no entanto, só a partir de 92 horas houve índices de mortalidade satisfatória por meio do Teste de ABBOTT. Isso apontou que a morte em longo prazo ocorreu devido ao consumo do extrato uma vez que, o ensaio foi realizado sem ambiente alimentício para as mesmas. O extrato não promoveu estímulos à pupação.

Ainda que positivos, é necessário o particularizar pesquisas botânicas quanto ao potencial tóxico das folhas de *A. muricata*, pois a pesquisa não identificou os princípios ativos responsáveis pela ação repelente e larvicida visto que as plantas possuem inúmeros metabólitos secundários que podem atuar de forma tóxica. Além disso, é fundamental a identificação das larvas das moscas afetadas e análises do extrato em espécies adultas por meio de cultivos controlados, uma vez que, a pesquisa demonstrou eficiência nos grupos larvais,

Por fim, acredita-se que pesquisas voltadas ao potencial tóxico em pragas domésticas utilizando *A. muricata* é promissora, além de suas folhas, as demais estruturas da espécie como caule, raiz, frutos que são ricas em princípios ativos (ALALI *et al*, 1999) devem ser exploradas para estudos larvicidas e inseticidas. Isso contribui para desenvolvimento de produtos naturais em pragas minimizando a utilização de produtos sintéticos integrando esses métodos alternativos. O estudo bibliográfico vem apontando maior índice de pesquisas com a planta em *Aedes aegypti*, em moscas ainda há baixo percentual de pesquisas (KRINSKI, 2014).

REFERÊNCIAS

- ABUBACKER, M. *et al.* Isolation and identification of biolarvicide from *Soursop* (*Annona muricata* Linn.) Aqueous leaf extract to mosquito (*Aedes aegypti* Linn) larvae. **An International Quarterly Journal of Biology and Life Sciences**. [s.l.], 2(2):579-585. 2014;
- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], 18: 265-266, 1925
- ALALI, F.Q. *et al.* Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural products**, v. 62, n. 3, USA, p. 504-540, 1999.
- AQUINO, V. V. F. *et al.* Metabólitos Secundários e ação antioxidante de *Croton heliotripifolius* e *Croton blanchetianus*. **Acta Brasiliensis**, Paraíba, v. 1, n. 3, p. 28-31, 2017.
- BARNES, R. S. K *et al.* Os Invertebrados – Uma nova Síntese. **Atheneu editora**, São Paulo, p. 526. 1995.
- BRAGA, B. M. *et al.* ATIVIDADE REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Xylopia aromatica* SOBRE *Sitotroga cerealella*. **Congresso Estadual de Iniciação Científica do IF Goiano**, 4 ed, Goiania, 2015.
- BRITO, L. G. *et al.* Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteros de interesse veterinário em laboratório. **Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTEC-E)**, Porto velho, 2008.
- CALZAVARA, B. B. G.; MULLER, C. H. Fruticultura tropical: a graviola (*Annona muricata* L). **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTEC-E)**, Belém, Pará, 1987.
- CAMPOS, S. C. *et al.* Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Minas Gerais, v. 18, n. 1 supl I, p. 373-382, 2016.
- CARDOZO, G. M. B. Q. *et al.* **Avaliação de *Musca domestica* como vetor mecânico de microrganismos patogênicos em queijo minas frescal**. Dissertação – (Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.
- CAPINERA, J. L. **Insects and wildlife: arthropods and their relationships with wild vertebrate animals**. Hoboken, Nova Jersey: Wiley-Blackwell, 2010, 500 p.
- CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Museu Paraense Emílio Goeldi, Publicações Avulsas, Pará, 84p, 1972.
- CHAGAS, A. de S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. In: Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Minas Gerais, v. 13, p. 156-160, 2004.
- CHAVES, D. S. de A. *et al.* Metabólitos secundários de origem vegetal: uma fonte potencial de fármacos antitrombóticos. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 172-180, 2010.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, Hérica Regina Nunes. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, São Paulo, v.13, p. 500-506, 2011.

COSTA, M. S., *et al.* "Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 184-190, 2013.

COUVREUR, T.L.P. *et al.* Early evolutionary history of the flowering plant family Annonaceae: steady diversification and boreotropical geodispersal. **Journal Biogeography**, USA, 38: 664-680, 2011.

DE PAIVA, D. P.; VANZIN, R. S. Controle integrado de moscas no meio rural: Guia Pedagógico do Instrutor para Vídeo. **Embrapa Suínos e Aves-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2007.

DE PINHO, L. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, Minas Gerais, v. 42, n. 2, 2012.

DE ALMEIDA, A. S.; DOS SANTOS, A. F. Flavonoides do Gênero *Annona*. **Diversitas Journal**, Alagoas, v. 3, n. 2, p. 475-485, 2018.

ESTRADA, K. R. F. S. *et al.* Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Maringá, SP, v. 30, n. 1/2, 2000.

DETHIER, V. G *et al.* The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 53, p. 134-136, 1960.

EZEMUOKA, L. C. *et al.* Toxicity of the aqueous leaf and Stem-bark extracts of *Annona muricata* to the 4th instar larvae of *Aedes aegypti*. **Journal of Entomology and Zoology Studies** 7(4), 1047-52, 2019.

FANG, X. P. *et al.* **Annonaceous acetogenins: An updated review. Phytochemical Analysis.**[s.l:s.n.],1993.

FARIAS, M. P. O. *et al.* Potencial acaricida do óleo de *Andiroba Carapa guianensis* Aubl. sobre fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Recife, v.61, n.4, p.877-882, 2009.

FORMAGIO, A. S. N. *et al.* Potencial alelopático de cinco espécies da família Annonaceae. **Revista brasileira de Biociências**. Porto Alegre, RS, v. 8, n. 4, p. 349-354, 2010.

FREITAS, S. R. **Quadro de Bioatividade de extratos a uosos de *Eucalyptus sp. L'Hér.*(Myrtaceae) e *Melia azedarach L.*(Meliaceae) sobre *Musca domestica L.*(Diptera, Muscidae).** Dissertação (Pós-Graduação em Parasitologia)-Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2008.

FUNDACAO NACIONAL DE SAUDE. **Controle de vetores: procedimentos de segurança**. Fundação Nacional de Saúde, Brasília, 2001.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo**. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Área de Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, PR, 2006.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P.U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (biología)**, Madrid, v. 2, n. 3, 2011.

GIGLIOTI, R. *et al.* Ação de extratos vegetais contra larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax*. 2009, Embrapa, São Carlos 2009. **Anais...** São Carlos: Embrapa, 2009. P.39.

GOMES, D. de O. B. **Mineração, turismo e ambiente em Pedro II, Piauí**. Tese (Doutorado em Geografia)- Curso de Pós-graduação em Geografia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP, 2011.

GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. *et al.* In vitro larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera, Tephritidae). **Interciencia**, Caracas, Venezuela, v. 37, n. 4, p. 284-289, 2012.

GORRI, J. E. R. *et al.* *Annona atemoya*: Uma planta Promissora no controle de *Anticarsia gemmatilis*. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, Rio Paranaíba, MG, v. 4, n. 3, p. 0322-0326, 2018.

GOVINDARAJAN, M. Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Burm. F. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v.3, n.9, p.691-695, 2010

GUINATI, B. G. de S. *et al.* Inseticidas Domésticos-composição química, riscos e precauções na sua manipulação. Goiânia, GO, **Estudos**, v. 41, n. 1, p. 86-94, 2014.

ISMAN, M. B.; SEFFRIN, R. Natural insecticides from the Annonaceae: a unique example for developing biopesticides. In: **Advances in plant biopesticides**. Springer, New Delhi, Canadá, p. 21-33, 2014.

JARDIM, M. A. G. *et al.* **Fitoterapia popular e metabólitos secundários de espécies vegetais da Ilha de Algodoal**. Rev. Bras. Farm., Município de Maracanã, Pará, 2005.

KHAMESIPOUR, F. *et al.* **A systematic of review of human pathogens carried by the housefly (*Musca domestica* L.)**, BMC Public Health, v. 18, n. 1049, 2018.

KIILL, L. H. P. *et al.* Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) na região de Petrolina-PE. **Ciência Rural**, Petrolina, PE, v. 33, n. 5, 2003.

KLAUCK, V. *et al.* Insecticidal effect of several essential oils against *Musca*

domestica. **Comparative Clinical Pathology**, [s.l.] v. 27, n. 1, p. 167-172, 2018.

KRINSKI, D. *et al.* Insecticidal potential of the Annonaceae family plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Botucatu, SP, v. 36, n. SPE1, p. 225-242, 2014.

LIMA, H. M. A. *et al.* Toxicidade do extrato orgânico de sementes de *Annona muricata* L. (Annonaceae) sobre *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard, 1960) (Acari: Tetranychidae) em tomateiro. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.12, n.4, p. 201-205, 2014.

MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. de. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 103-106, 2007.

MELO, D. R. *et al.* **Atividade do óleo essencial de Lippia sidoides (Verbenaceae) e dos monoterpenos timol e carvacrol sobre larvas e pupas de Musca domestica Linnaeus**, 1758 (Diptera: Muscidae). Dissertação-(Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas)-UFJF, Juiz de Fora, 2014.

MOGHADAMTOUSI, S. *et al.* *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. **International Journal of Molecular Science**, [s.l.], v.16 n. 7, p. 15625-15858, 10 ju. 2015.

MORALES C. A.; GONZÁLEZ, R.; ARAGÓN, R.. Evaluación de la actividad larvica 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**, Bogotá, v. 30, n.2, p.187-192, 2004.

MOREIRA, M. F. *et al.* Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Inst Nac Ciênc Tecnol Entomol Mol**, Rio de Janeiro, v. 15, p. 1-23, 2012.

ORTIZ, J. A. *et al.* Cría de la Mosca Doméstica para Utilizarla como Polinizador de las Flores de Mango Ataulfo. **Manual Técnico. ECOSUR-CONACYT**, Chiapas, México, v. 14, 2011.

PAES, M. M. *et al.* Potencial Citotóxico das Acetogeninas do Gênero *Annona*. **Revista Virtual de Química**, Campos dos Goytacazes-RJ, v. 8, n. 3, p. 945-980, 2016.

PONTES, A. F. *et al.* Flora Paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica**, Paraíba, v. 18, n. 2, p. 281-293, 2004.

RODRIGUES, A. M.; MANARIM, L. K. Defensivos agrícolas, Hortifrutis são o terceiro maior mercado do país. **Hortifruti Brasil**, [s.l.], n. 107, p. 10, 2011.

RODRIGUES, A. M. *et al.* Larvicidal and Enzymatic Inhibition Effects of *Annona muricata* Seed Extract and Main Constituent Annonacin against *Aedes Aegypti* and *Aedes Albopictus* (Diptera: Culicidae). **Pharmaceuticals**, Basilei, Suíça, v. 12, n. 3, p. 112, 2019.

RODRÍGUEZ, H.C. Plantas contra plagas: potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. **Texcoco: Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México** (RAPAM). 133 p, 2000.

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Porto Alegre, RS, v. 10, n. 14, 2009.

ROCHA, J. J. DE L. *et al.* Atividade do extrato etanólico de sementes de *Annona squamosa* L.(Annonaceae) sobre *Ascia monuste orseis* (Godart)(Lepidoptera: Pieridae). **Revista Craibeiras de Agroecologia**, Alagoas, v. 3, n. 1, p. 6659, 2018.

ROMAN, E. S. Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação. **Berthier**, Passo Fundo, MG, 2007.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2000. 48 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 20).

SAITO, M. L. *et al.* Verificacao da atividade inseticida de alguns vegetais brasileiros. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, São Paulo, 1989.

SANTO, E. *et al.* **Gerenciamento de resíduos perigosos oriundos de uma empresa de controle de animais sinantrópicos: estudo de caso**. Monografia- (Programa de Pós-graduação do Instituto de Biociências)- UFMT, Mato Grosso, 2016.

SANTOS, A. J. da S. *et al.* BIOATIVIDADE DO EXTRATO DE ATEMOIA (*Annona cherimola* x *A. squamosa*) SOBRE *Ascia monuste orseis* (GODART, 1818). **Nucleus**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 311-318, 2018.

SANTOS, A.M.M. Monitoramento e Controle de Moscas de Importância para Saúde Pública em Municípios do Interior do Estado de São Paulo. **Anais da XII reunião itinerante de Fitossanidade do instituto Biológico** - Pragas Agroindustriais, São Paulo, 2005.

SANTOS, L. dos *et al.* Efeito de extratos anonáceos em *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Homoptera: Aphididae) e seletividade para *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae). **Acta Sci., Agron.**, Maringá, v. 40, e36267, 2018.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. Alcaloides. In: Simões CMO (Org). Farmacognosia da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: UFSC, p. 765-791, 2010.

SALLES, L. L.; RECH, N.. Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.)(Diptera: Tephritidae). **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, RS v. 5, n. 3, 1999.

SCHIESARI, L. Defensivos agrícolas: Como evitar danos à saúde e ao meio ambiente, v. 8. **Anapu: Série Boas Práticas**, [s.l.], 2012.

SCHRECK, C. E. Techniques for the evaluation of insect repellents: a critical review. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 22, p. 101-119, 1977.

SILVA, A. D. R. da *et al.* **Extração e caracterização do óleo das sementes do fruto da graviola (*Annona muricata* L.)**- Dissertação (Programa de Pós Graduação em energia da Biomassa)-Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas-UFAL, Rio Largo, 2017.

SILVA, E. A. **Animais Sinatrópicos: Manual do Educador**; São Paulo; [s.n]. 25 p, 2003.

SILVA, E. M. *et al.* Atividade Inseticida de Extratos de Plantas sobre *Brevicoryne brassicae* (L. 1758)(Homoptera: Aphididae) em Couve-Manteiga. **Cadernos de Agroecologia**, Cassilândia, MS, v. 13, n. 2, p. 8-8, 2018.

SOBRINHO, R. B. Potencial de exploração de anonáceas no nordeste do Brasil. **Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria**, v. 17, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. **Fisiologia vegetal**, [s.l.]. v. 3, p. 309-344, 2004.

TRINDADE, R, C. P. *et al.* Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Rev. Colomb. Entomol.**, Bogotá , v. 37, n. 2, p. 223-227, Dec. 2011

TURCHEN, L. M. *et al.* Potential phytoinsecticide of *Annona mucosa* (Jacq)(Annonaceae) in the control of brown stink bug. **Bioscience Journal**, Tangará da Serra, MT, v. 32, n. 3, 2016.

UBULOM, Peace Mayen Edwin *et al.* Efficacy of the Seed Oil, Leaf Extract and Fractions of *Annona muricata* as Repellent and Larvicide against *Anopheles gambiae*. **Annual Research & Review in Biology**, University of Uyo, Nigeria. p. 1-13, 2019.

VEGETAIS, EXTRATOS. **Food Ingredients Brasil**. São Paulo, n. 11, p. 16-20, 2010.

WAHAB, N. Z. A. *et al.* Cytotoxicity and antiviral activity of *Annona muricata* aqueous leaves extract against dengue virus type 2. **Journal of Fundamental and Applied Sciences**, Malásia, v. 10, n. 1S, p. 580-589, 2018.

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. **British insects: the families of Diptera**, 2003. Disponível em: <<http://delta-intkey.com/britin/dip/index.htm>> Acesso em dez. 2019.

ZORZENON, F. J.. Noções sobre as principais pragas urbanas. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 231-234, 2002.

ANEXO A - CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DA *Annona muricata* (CAVALCANTE, 1972; CALVAZARA; MULLER, 1987)

Porte ereto e esguio; ramificações baixas quase verticais; folhagem perene; média de 4 a seis metro de altura e 15 a 30 cm de diâmetro de tronco; folhas com pecíolo curto, oblongas ou elípticas; coriáceas de cor verde escuro brilhantes; flores amarelas, grandes solitárias, que crescem no tronco ou ao longo dos ramos; fruto sincarpico ovoide ou elipsoide, pela união de vários carpelos com o receptáculo; carpelos com sementes; casca delgada verde escura ornada de aréolas; possui polpa branca sucosa agri-doce com sabor agradável; presença de numerosas sementes com coloração preta no fruto.

ANEXO B - PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO ADAPTADO (FURTADO, 2006)

1) - A produção de extratos possuem variações metodológicas. São praticas capazes de extrair óleos essenciais de plantas, os quais estão presentes os metabólitos secundários, substâncias com alto poder tóxicos e de interesse de estudos científicos (SAITO; SCRAMIN, 2000). O método utilizado no presente trabalho, embasou-se em adaptações do Padrão de Extratos Hidroalcoólicos (EAPs) realizadas por Furtado (2006).

2) Materiais:

- ❖ Estufa;
- ❖ Béquer;
- ❖ Pinça de metal e madeira;
- ❖ Fogão elétrico;
- ❖ Recipiente de alumínio;
- ❖ Balança;
- ❖ Pipetas;
- ❖ Proveta;
- ❖ Funil;
- ❖ Termômetro;
- ❖ Luvas de silicone;
- ❖ Agua destilada;
- ❖ Liquidificador;
- ❖ Gaze;
- ❖ Algodão;
- ❖ Etanol 50%;

3) Métodos:

Após a coleta manual, as folhas devem ser higienizadas com água (lavagem) e levadas à estufa para secagem em circulação de ar a 60° por 48 horas. Depois de secas, as folhas devem ser trituradas, em seguida, pesagem do seu pó e posteriormente colocadas em um Béquer totalmente fechado e deixado em ambiente

escuro (armário) por cerca de 6 dias. Após esse período, deve-se colocá-lo em etanol 50% e medido a concentração obtida, em seguida, encubado em banho-maria a 60° em um período de 60 minutos com auxílio de um termômetro para controle. Após isso, ainda quente, realizar filtragem com filtro de algodão, uma nova medição de concentração e levadas à estufa à 40° para atingirem peso constante (evaporação do solvente). Por fim, o extrato bruto deve solubilizado em água destilada, medido sua concentração obtida, e separá-los em tubos de ensaios em concentrações 100%, 50%, 30% e 15% para realizações da experimentação.

- 4) As aplicações podem ser realizadas por meio de pipetagem, inoculação ou borrifagem.
- 5) Análises podem ser realizadas a olho nu, uso de lupas, microscópios (se necessário) para comportamento larval submetidos ao extrato e é necessário utilizar a Fórmula de ABOOTT para verificar sua taxa de eficiência (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001):

$$Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100\% - \%Mt} \times 100\%$$

Mc = Mortalidade corrigida; Mo = Mortalidade observada; Mt = Mortalidade na testemunha

- 6) Algumas escalas devem ser adotadas para relacionar a eficácia de produto durante o teste:

S (seletivo = 0 a 20 %), B (baixa toxicidade = 21 a 40 %), M (média toxicidade = 41 a 60 %) e A (alta toxicidade = 61 a 100 %) (Art. 27).