IV CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS COINTER - PDVAgro 2019

EFEITO LARVICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DA FLORESTA NACIONAL DO ARARIPE EM *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

EFFECTO LARVICIDA DE ACEITES ESENCIALES DE LAS PLANTAS FORESTALES NACIONALES DE ARARIPE EN AEDES AEGYPTI (DIPTERA; CULICIDAE)

LARVICIDE EFFECT OF ESSENTIAL OILS FROM NATIONAL ARARIPE FOREST PLANTS IN AEDES AEGYPTI (DIPTERA; CULICIDAE)

Apresentação: Comunicação Oral

Rita de Cássia Alves de Brito Ferreira¹; João Roberto Pereira dos Santos²; Karolyne Peixoto de Melo Nascimento³; Francisco Roberto de Azevedo⁴

DOI: <https://doi.org/10.31692/2526-7701.IVCOINTERPDVAgro.2019.0118>

Resumo

A dengue é uma infecção viral sistêmica, que atualmente apresenta quatro sorotipos diferentes e é transmitida pelo mosquito *Aedes Aegypti*, que é um inseto de climas tropicais e subtropicais, que vive em áreas urbanas e se reproduz principalmente em recipientes sintéticos. O controle da doença ocorre apenas pelo controle do vetor, que em sua grande maioria é feito por meio de produtos químicos, sendo os principais os organofosfatos e piretróides e a resistência a esses inseticidas já foi generalizada pelo Brasil. Então, estimulou-se a busca por inseticidas alternativos, como os botânicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições de laboratório, o efeito larvicida de óleos essenciais de plantas da FLONA e identificar a de maior eficácia sobre as larvas do *Aedes aegypti*. Foram utilizadas cinco plantas (*Baccharis dracunculifolia* DC (Alecrim do Campo); *Copaifera langsdorffii* Desf. (Pau d'óleo); *Ocotea* sp. (Louro Cheiroso); e *Anacardium humile* Saint Hill (Cajuí) *Caryocar brasiliense* CAMB. (Pequi)) e larvas do mosquito em terceiro instar, o óleo foi extraído por hidrodestilação por aparelho de Clevenger e o utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (tratamentos x repetições). O trabalho foi dividido em três etapas: todos os óleos com a mesma concentração; o óleo com melhor potencial em várias concentrações (0, 5, 10, 20, 50 e 75 µg/ml); e a melhor concentração em várias temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35 °C). A análise estatística foi feita pela ANAVA e teste de Tukey (5%), e eficiência do óleo foi calculada pela fórmula de Abbott. O óleo essencial de Louro Cheiroso apresentou maior atividade larvicida, enquanto os demais não apresentaram resultados significantes. O Louro Cheiroso aplicado a 75 µg/ml e submetido a uma temperatura de 35 °C

¹ Agronomia, Universidade Federal do Cariri-UFCA, rittacassiabrito.ferreira@gmail.com

² Agronomia, Universidade Federal do Cariri-UFCA, joaorobertopereira052@gmail.com

³ Agronomia, Universidade Federal do Cariri-UFCA, karolynne_px@hotmail.com

⁴ Professor associado III, Universidade Federal do Cariri-UFCA, roberto.azevedo@ufca.edu.br

causa maior mortalidade às larvas de *Aedes aegypti* em condições de laboratório. O uso de óleos essenciais no controle de *Aedes aegypti* é uma alternativa possível, visto o grande desempenho em baixas concentrações. Porém, ainda são necessários estudos para identificação dos compostos que causam efeito sobre as larvas do mosquito. Também são necessárias pesquisas para avaliar o efeito tóxico sobre animais e humanos.

Palavras-Chave: Saúde; sustentabilidade; dengue.

Resumen

El dengue es una infección viral sistémica que actualmente tiene cuatro serotipos diferentes y es transmitida por el mosquito *Aedes Aegypti*, que es un insecto de climas tropicales y subtropicales que vive en áreas urbanas y se reproduce principalmente en contenedores sintéticos. El control de enfermedades ocurre solo a través del control de vectores, que está hecho principalmente por productos químicos, los principales son organofosforados y piretroides y la resistencia a estos insecticidas ya se ha extendido en Brasil. Luego se estimuló la búsqueda de insecticidas alternativos, como los botánicos. El objetivo de este estudio fue evaluar, en condiciones de laboratorio, el efecto larvicida de los aceites esenciales de las plantas FLONA e identificar el más efectivo en las larvas de *Aedes aegypti*. Se utilizaron cinco plantas (*Baccharis dracunculifolia* DC (Romero del campo); *Copaifera langsdorffii*. (Pau d'Oleo); *Ocotea* sp. (Louro Cheiroso); En larvas de tercer estadio, el aceite se extrajo por hidrodestilación mediante un aparato Clevenger y se utilizó el diseño completamente al azar (tratamientos x repeticiones). El trabajo se dividió en tres etapas: todos los aceites con la misma concentración; el aceite con el mejor potencial a diversas concentraciones (0, 5, 10, 20, 50 y 75 µg / ml); y la mejor concentración a varias temperaturas (15, 20, 25, 30 y 35 ° C). El análisis estadístico se realizó mediante ANAVA y la prueba de Tukey (5%), y la eficiencia del aceite se calculó mediante la fórmula de Abbott. El aceite esencial de Louro Cheiroso mostró una mayor actividad larvicida, mientras que los otros no presentaron resultados significativos. Oler Louro aplicado a 75 µg / ml y sometido a una temperatura de 35 °C causa mayor mortalidad a las larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. El uso de aceites esenciales para controlar *Aedes aegypti* es una posible alternativa, dado el gran rendimiento a bajas concentraciones. Sin embargo, aún se necesitan estudios para identificar compuestos que tengan un efecto sobre las larvas de mosquito. También se necesita investigación para evaluar el efecto tóxico en animales y humanos.

Palabras Clave: Salud; sostenibilidad; dengue.

Abstract

Dengue is a systemic viral infection that currently has four different serotypes and is transmitted by the *Aedes Aegypti* mosquito, which is an insect from tropical and subtropical climates that lives in urban areas and reproduces mainly in synthetic containers. Disease control occurs only through vector control, which is mostly made by chemical products, the main ones being organophosphates and pyrethroids and resistance to these insecticides has already been widespread in Brazil. Then the search for alternative insecticides such as botanists was stimulated. The objective of this study was to evaluate, under laboratory conditions, the larvicidal effect of essential oils from FLONA plants and to identify the most effective one on *Aedes aegypti* larvae. Five plants were used (*Baccharis dracunculifolia* DC

(Rosemary of the Field); *Copaifera langsdorffii*. (Pau d'Oleo); *Ocotea* sp. (Louro Cheiroso); In third instar larvae, the oil was extracted by hydrodistillation by Clevenger apparatus and the completely randomized design (treatments x repetitions) was used. The work was divided into three stages: all oils with the same concentration; the oil with the best potential at various concentrations (0, 5, 10, 20, 50 and 75 µg / ml); and the best concentration at various temperatures (15, 20, 25, 30 and 35 ° C). Statistical analysis was done by ANAVA and Tukey test (5%), and oil efficiency was calculated by Abbott's formula. Louro Cheiroso essential oil showed higher larvicidal activity, while the others did not present significant results. Smelling Louro applied at 75 µg / ml and submitted to a temperature of 35 °C causes higher mortality to *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. The use of essential oils to control *Aedes aegypti* is a possible alternative, given the great performance at low concentrations. However, studies are still needed to identify compounds that have an effect on mosquito larvae. Research is also needed to assess the toxic effect on animals and humans.

Keywords: Cheers; sustainability; dengue.

Introdução

A dengue é uma infecção viral sistêmica, que atualmente apresenta quatro sorotipos diferentes. Nas últimas décadas o número de casos da doença aumentou de forma considerável, principalmente em centros urbanos. Ainda não existem tratamentos específicos para a doença, sendo necessário o controle do vetor e de seus criadouros para diminuir a transmissão (BHATT, 2013; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

O *Aedes aegypti*, é um mosquito de climas tropicais e subtropicais que vive em áreas urbanas e se reproduz principalmente em recipientes sintéticos. O seu hábito alimentar é diurno e a fêmea pica várias pessoas durante seu período de alimentação. Além do vírus da dengue este é vetor de mais três arboviroses, zika, chikungunya e febre amarela. O vírus são transmitidos especificamente pela fêmea, que adquire de um indivíduo que já o possui e depois de 4 a 10 dias que o vírus fica em estado de incubação o mosquito pode o transmitir pelo resto de suas vidas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Como já citado anteriormente, o controle da doença ocorre apenas pelo controle do vetor, que em sua grande maioria é feito por meio de produtos químicos. O sucesso disso depende não apenas do produto utilizado, mas também da susceptibilidade do mosquito (MARCORIS et al., 2014). Segundo Lima et al. (2011), os principais produtos utilizados para o controle do inseto no país são os organofosfatos e piretróides e a resistência a esses inseticidas já foi generalizada pelo Brasil. No Ceará, os mesmos afirmam, que a população do mosquito está sob pressão de aplicação para seleção de indivíduos resistentes, o que

compromete a utilização do termephos, que é um organofosforado. Outros problemas associados ao uso desses produtos são os danos ao meio ambiente e a saúde humana, fazendo-se necessário o uso apenas em caso de epidemias e utilizando medidas educativas e fiscalização da residência para eliminação de criadouros, por agentes de saúde (GUIRADO & BICUDO, 2009).

A alta taxa de resistência dos mosquitos aos produtos químicos utilizados fez se necessário que novas alternativas de controle fossem elaboradas. Então, iniciou-se um processo de estudos para o controle das larvas e do mosquito aliando o controle químico e genético, utilizando mosquitos geneticamente modificados, uso de bactérias que inviabilizam a prole dos insetos e busca por novas moléculas químicas. A busca por novas moléculas ocorre principalmente em produtos de origem vegetal. No Brasil utilizam-se plantas da flora nacional (VALLE et al., 2015).

A busca por inseticidas vegetais têm sido estimulada e muitos óleos vegetais já tiveram suas propriedades larvicidas identificadas ou seus constituintes químicos isolados. Um dos mais utilizados no controle é o Nim Indiano (*Azadirachta indica* autor?) que tem como princípio ativo a azaractina e teve seu óleo essencial testado em *A. Anopheles stephens* e *Culex quinquefasciatus* (DUA et al., 2009). Também já foram bastante estudadas várias espécies de piperáceas, do gênero Piper: *P. marginatum* Jacq., *P. arboretum* Aubl. e *P. aduncum* Vell. (SANTANA et al., 2015), *P. nigrum* (COSTA et al., 2010). O efeito toxicológico do óleo essencial do *Eucalyptus cinerea* também já foi testado (CAVALCA et al., 2010).

A Floresta Nacional do Araripe – FLONA está localizada na Chapada do Araripe, no sul do Estado do Ceará. A mesma abrange parte dos municípios do Crato, Barbalha, Jardim e Santana do Cariri no Estado do Ceará. Assim, em razão de sua localização e seu potencial, apresenta grande importância pelas funções ecológicas que desempenha. Dentro dessa unidade de conservação encontramos vegetações como o Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica Úmida, passando ainda por áreas de fitofisionomias de transição entre os dois extremos. É também notável a vegetação subxerófila, adaptada a solos arenosos e bem drenados, conhecida regionalmente como Agreste (IBAMA, 2010).

Alguns estudos já foram realizados com extratos de plantas nativas da FLONA com finalidades medicinais (SOUZA, 2012; BALCAZAR, 2012; LANDIM e COSTA, 2012; MACÊDO, 2013; PEREIRA et al., 2014). Na região do Cariri, alguns trabalhos já foram

feitos testando óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *A. aegypti* (DA SILVA et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições de laboratório, o efeito larvicida de óleos essenciais de plantas da FLONA e identificar os de maior eficácia sobre as larvas do *Aedes aegypti*.

Fundamentação Teórica

O emprego de substâncias extraídas de plantas, na qualidade de inseticidas, tem inúmeras vantagens quando comparado aos inseticidas sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias, compostas da associação de vários princípios ativos é processo lento; estes inseticidas são de fácil acesso e obtenção e não deixam resíduos em alimentos, além de apresentarem baixo custo de produção (ROEL, 2001).

Dentre os testes realizados com fitoquímicos, os óleos essenciais de vegetais são os mais utilizados como atraentes ou repelentes de insetos (BOWMAN, 2006). Em muitas plantas são encontradas substâncias geralmente voláteis que podem ser detectadas pelas antenas ou tarsos de insetos. Entre essas, estão os monoterpenos (citronelal, linalol, mentol, pinenos, mentona, carvona e limoneno), os sesquiterpenos (farnesol, nerolidol), os fenilpropanóides (safrol, eugenol) e muitos outros compostos (SIMÕES e SPTIZER, 2004).

Muitas espécies de plantas da Família Lamiaceae são tóxicas para insetos, como as do gênero *Ocimum* spp. (Palsson & Jaenson, 1999). Extratos de plantas incluindo *O. basilicum*, *O. gratissimum*, *O. americanum*, *Cymbopogon nardus*, *Alpinia galanga*, *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris*, *Mentha* spp., *Eucalyptus maculata citriodon*, *Tagetes* spp. e *Lantana camara* (ANSARI et al. 2005) têm sido estudadas como possíveis repelentes de mosquitos.

Alguns fitoquímicos são deterrentes, pois impede a alimentação do inseto, levando-o à morte. Esta ação já foi descrita para a rotenona (SIMÕES, 1998). De acordo com Mordue (Luntz) e Nisbet (2000), a deterrência é um distúrbio que está associado a mecanismos sensoriais e causa redução do consumo de alimento, provocando deficiência nutricional. A falta de nutrientes, por sua vez, pode ocasionar atraso no desenvolvimento ou deformações.

No Brasil, Coelho et al. (2006) adicionaram azadirachtina à dieta de larvas do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* em laboratório e verificaram que nas concentrações de 0,1 µg de azadirachtina mg⁻¹ de dieta, houve aumento significativo da mortalidade larval

quando comparado ao grupo controle. A concentração de 10µg de azadirachtina mg⁻¹ foi a que promoveu maior percentual de mortalidade das larvas (74,4 ± 8,3%). As concentrações de 0,1 e 1,0 µg de azadirachtina mg⁻¹ de dieta bloquearam a muda das larvas do inseto, que permaneceram no terceiro estágio até o final do experimento. Além disso, a adição simultânea de ecdisona (1 µg mg⁻¹/dieta) reverteu os efeitos inibidores desta substância. Concluiu-se que a azadiractina é potente inibidor do crescimento de larvas desse flebótomo.

Já os fagoderrentes são substâncias naturais que têm a propriedade de interromper o repasto sanguíneo, podendo este efeito ser temporário ou permanente e agem sobre o sistema nervoso central dos insetos e são específicos para determinadas espécies (PINTO et al., 2002). Plantas da família Meliaceae são conhecidas por conter uma variedade de compostos com atividade inseticida, fago-inibidora e reguladora do crescimento (NAKATANI et al., 2004), estas últimas devido à presença dos limonóides (NATHAN et al., 2005). Estes compostos podem ser encontrados em todos os tecidos das plantas desta família, no entanto, diversas partes das plantas podem individualmente produzir diferentes tipos de limonóides (MATIAS et al., 2002).

Existe grande diversidade de limonóides isolados da família Meliaceae, entre eles, as azadirachtinas, sendaninas e trichilinas, além dos que apresentam o anel C-seco. Os limonóides com anel C-seco restringe-se aos gêneros *Azadirachta* e *Melia* (CHAMPAGNE et al., 1992).

Outras famílias de plantas apresentam substâncias fagorrepelentes como as Papilionaceae, Loganiaceae e Fabaceae que são ricas em rotenonas e rotenóides. A rotenona é um produto inseticida obtido de raízes de diversas plantas (SIMÕES, 1998). Esta substância é componente inseticida das raízes de *Derris* sp, planta pertencente ao gênero *Lonchocarpus* e de vários arbustos leguminosos (BOWMAN, 2006). Luitgards-Moura et al. (2002) utilizaram extratos aquosos do caule de *Derris* amazônica e folhas de *Antonia ovata*. Em experimentos com adultos de *L. longipalpis* verificou-se que após 72 horas de exposição à *D. amazônica* houve um percentual de mortalidade de 100% das fêmeas destes insetos quando utilizou-se a concentração de 250 g L⁻¹. Os machos foram mais susceptíveis (80% de mortalidade) ao extrato das folhas de *A. ovata* na mesma concentração.

Um grande número de diferentes espécies de plantas representando diversas áreas geográficas ao redor do mundo tem apresentado compostos capazes de causar efeitos tóxicos e agudos sobre insetos (SHAALAN et al. 2005).

Esta situação pode impedir muitos inseticidas vegetais de alcançar a esfera comercial em países onde existe grande demanda destes produtos. Apesar disso, a busca de novos inseticidas constitui-se um campo de investigação aberto, amplo e contínuo. A grande variedade de substâncias presentes na flora continua sendo enorme atrativo na área de controle de insetos, principalmente levando-se em consideração que apenas pequena parcela destas plantas foi investigada com tal finalidade (SIMÕES e SPITZER, 2004) e a FLONA tem uma grande variedade de vegetações que abrigam diferentes espécies de plantas com ação inseticida.

Metodologia

Nessa pesquisa foram utilizados os óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* DC (Alecrim do Campo); *Copaifera langsdorffii* Desf. (Pau d'óleo); *Ocotea* sp. (Louro Cheiroso); e *Anacardium humile* Saint Hill (Cajuí), foram adquiridos a partir de extração da parte aérea de plantas coletadas na FLONA, no município de Crato, Estado do Ceará. E o óleo de *Caryocar brasiliense* CAMB. (Pequi), foi adquirido no comércio local.

O método utilizado para a extração foi a hidrodestilação por aparelho de Clevenger modificado por um período de duas horas, no qual, em média 220 gramas do material foi submerso em 1.000 mL de água destilada, dentro de um balão de fundo redondo com capacidade para 2.000 mL. Após o fim da extração o óleo foi retirado com o auxílio de uma pipeta Pasteur, purificado com Na₂SO₄ anidro e armazenado em um frasco de vidro recoberto com papel alumínio e guardado em um freezer.

As larvas foram obtidas a partir de ovos coletados em armadilhas artesanais denominadas de ovitrampas instaladas no Sítio Terra Nova em Missão Velha – Ceará, Brasil, e no Bairro São José, em Juazeiro do Norte – Ceará. Essas armadilhas eram compostas por um vaso com capacidade para 400 mL de polipropileno preto contendo água e extrato aquoso de feno a 10% fermentado, para atração da fêmea, e uma palheta de madeira com textura porosa para fixação dos ovos, presas na parede e colocadas em locais de possíveis focos. Essas permaneceram por cinco dias e depois a solução aquosa e as palhetas eram trocadas a cada cinco dias. Em seguida, os ovos foram levados ao Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Cariri, no Crato, para serem contados e armazenados. Alguns ovos também foram disponibilizados pelo Laboratório de Entomologia de Juazeiro do Norte.

Para a eclosão dos ovos as palhetas de madeira foram colocadas dentro de bandejas brancas de 22 x 19 cm com capacidade para 3.000 mL, deixando-as nas bancadas do

laboratório de Entomologia à temperatura ambiente por cinco dias, período mínimo para que haja a eclosão das larvas. Após a eclosão as palhetas foram retiradas e as larvas foram alimentadas com ração para peixe até atingirem o 3º instar (L3).

Todo o experimento foi conduzido em câmara incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D), com as temperaturas anteriormente citadas ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa de 70% ($\pm 10\%$) e fotofase de 12 horas.

O experimento foi conduzido em três etapas. Na primeira a mesma concentração foi testada com diferentes óleos. Cada óleo essencial foi pesado para obtenção de um miligrama (mg) de óleo, em uma balança de precisão numa escala analítica (0,0001), que posteriormente foi colocado em Béquer de vidro e adicionado 200 mL de água destilada, tendo assim a concentração de 5 micrograma por mililitro ($\mu\text{g}/\text{mL}$). E para o controle utilizou-se água destilada. Em cada tratamento foram utilizadas 10 larvas por repetição, sendo quatro repetições no total. As larvas eram retiradas da bandeja com auxílio de uma pipeta Pasteur e colocadas em copos de polietileno com capacidade para 50 mL de solução. Após o período de 24, 48 e 72 horas de exposição das larvas aos tratamentos a mortalidade das larvas eram anotadas, sendo consideradas mortas aquelas que não reagiram ao estímulo mecânico de uma pinça ou pincel.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, representado pelos óleos (Alecrim do Campo, Pau d'óleo, Louro Cheiroso, Cajuí e Pequi), pelo tratamento controle (sem aplicação de óleo), tendo cada tratamento quatro repetições. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANAVA). Após o teste de normalidade foi feita a transformação dos dados usando ($Y+10,5$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância utilizando o programa Sisvar 5.6, UFLA.

A segunda etapa consistiu em testar as concentrações de 0, 5, 10, 20, 50 e 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do óleo que teve o melhor desempenho no primeiro teste. Sendo a concentração 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ representada por água destilada. Cada tratamento com quatro repetições. A eficiência dos tratamentos foi avaliada pela fórmula de Abbott (1925), que leva em consideração o número de larvas mortas e número de indivíduos vivos em cada tratamento.

Sendo $E\%$ = Porcentagem de eficiência; NC = Número de larvas vivas no tratamento controle; e NT = Número de larvas vivas no tratamento com óleo essencial.

A concentração com maior eficiência de mortalidade foi testada nas temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35 $^{\circ}\text{C}$ (terceira etapa), para analisar se haveria o efeito desse fator climático

sobre a ação do óleo sobre as larvas. Foram utilizadas dez repetições por tratamento, com dez larvas cada e controle com água destilada. A análise foi feita pela Fórmula de Abbott, já citada anteriormente.

Todas as etapas do experimento foram conduzidas em câmara incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D), com umidade de 70 % ($\pm 10\%$), fotoperíodo de 12 horas e temperaturas de 25 °C (primeira e segunda etapas) e temperaturas já citadas (terceira etapa).

Resultados e Discussão

O rendimento dos óleos essenciais por hidrodestilação foram *Ocotea sp.* com 0,44%, seguida pela *Anacardium humile* Saint Hill (0,04%), *Copaifera langsdorffii* Desf. (0,03%) e *Baccharis dracunculifolia* DC (0,02%).

Com relação à atividade larvicida dos óleos testados, todos apresentaram efeitos sobre as larvas de *A. aegypti*. A eficiência de mortalidade dos óleos, ao fim das 72 horas de exposição, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação de médias de mortalidade dos diferentes óleos essenciais na concentração de 5 µg/mL, sobre as larvas do *Aedes aegypti*. Crato-CE, 2019.

Tratamentos	Média de Mortalidade
<i>Caryocar brasiliense</i> (Pequi)	1.03 b
<i>Baccharis dracunculifolia</i> (Alecrim do Campo)	1.03 b
<i>Anacardium humile</i> Saint Hill (Cajuí)	1.07 b
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. (Pau d'óleo)	1.10 b
<i>Ocotea sp.</i> (Louro Cheiroso)	1.62a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..

Todos os óleos apresentaram atividade inseticida sobre as larvas do vetor, sendo que o óleo essencial de Louro Cheiroso, estatisticamente, foi o mais eficiente ao fim do período de exposição (Tabela 1). Os demais óleos essenciais não apresentaram diferença significativa de mortalidade. A baixa eficiência dos óleos pode ter sido causado pelo uso de uma baixa concentração (5 µg/ml).

De Andrade Porto et al. (2013), utilizaram o líquido da castanha do caju (*Anacardium occidentale*) recém-produzido e armazenado por seis meses, para analisar o efeito inseticida sobre larvas de *A. aegypti* e encontraram concentrações letais de 50% das larvas entre 0,07 mg/mL e 0,009 mg/mL e 95% é de 0,013 mg/mL. Guimrães et al. (2015), testaram a atividade larvicida do extrato hidroalcoólico da casca do pequi em larvas de *Aedes aegypti* e concluíram que o mesmo poderia ser utilizado como alternativa ao controle do mosquito apresentando alta mortalidade em todas as concentrações testadas 50, 25 e 12,5 mg/mL, nas primeiras duas horas de exposição com 100; 91,6 e 75% de mortalidade de larvas, respectivamente.

Reichert Jr et al. (2013), testou o efeito repelente do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC sobre insetos em grãos de milho armazenados e concluiu que o óleo apresentou efeito repelente em todas as concentrações testadas (0, 10, 20, 30, 50 e 100µL), entretanto o efeito inseticida foi observado apenas na dose mais alta após 48 horas de exposição. De acordo com Porto et al. (2017), o extrato de *B. dracunculifolia* não causa morte de larvas de *Aedes aegypti* em baixas concentrações, sendo capaz de causar mortalidade de até 30% das larvas em uma concentração de 0,5 mg/mL. Dados obtidos em seu trabalho que visava fazer a triagem de plantas com efeito inseticida em larvas de *A. aegypti* com base nos extratos e frações de plantas.

Estudos com óleos essenciais de Pau-d'óleo são raros, sendo mais utilizado o óleo de resina. De Oliveira et al. (2015), em um estudo com o intuito de testar a ação larvicida das frações hexânicas e metanólicas do óleo-resina da *C. langsdorffii* sobre as larvas do mosquito da dengue, em condições de campo e nos reservatórios mais presentes no meio urbano (pneu, vidro e plástico). Neste trabalho observaram que todos os tratamentos causaram mortalidade, diferenciando-se no recipiente utilizado e concluíram que os resultados obtidos por eles eram promissores, mas necessitam de mais estudos para facilitar o seu uso no controle desse vetor.

O maior desempenho do óleo de Louro Cheiroso pode ser explicado pelo composto químico Safrol que está presente em grande quantidade nas plantas do gênero *Ocotea* (Cansian et al., 2010; Maar & Rosembrock, 2012). Em um estudo com quatro óleos essenciais diferentes plantas e seus efeitos larvicidas sobre as larvas do *A. aegypti*, Leyva et al. (2009) observaram que a maior atividade larvicida foi da planta *Piper auritum* que possuía em sua constituição química 93,24% de Safrol,

A eficiência de mortalidade das concentrações do óleo de *Ocotea* sp. sobre as larvas de *A. aegypti*, pode ser observado na tabela 2.

Tabela 2: Eficiência de diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocotea* sp. sobre as larvas do mosquito.

Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)	Eficiência (%)		
	24	48	72
0	0	0	0
5	7,5	7,69	15,78
10	10	17,94	23,68
20	11,3	22,5	37,8
50	12,53	38,46	76,31
75	42,5	76,92	100

Fonte: Própria (2019)

Como esperado o aumento da concentração provocou aumento da mortalidade ao longo do período de exposição. A concentração de 75 $\mu\text{g/mL}$ causou 100% de mortalidade após 72 horas de exposição, enquanto o tratamento sem óleo não provocou mortalidade.

A figura 1 demonstra o comportamento da porcentagem de eficiência ao longo do período de exposição, observar a mortalidade por período de exposição (Figura 1), os números 1, 2 e 3 representam os períodos de 24, 48 e 72 horas, respectivamente.

Figura 1: Gráfico de eficiência de mortalidade por período de exposição Crato-CE, 2019.

Fonte: Própria (2019)

Pode-se perceber que não houve uniformidade entre os tratamentos, pois algumas concentrações apresentaram maior porcentagem de mortalidade nas primeiras 24 horas e nos períodos seguintes a porcentagem foi diminuindo gradativamente (10 e 75 $\mu\text{g/mL}$), outras foram aumentando a sua eficiência de mortalidade ao longo do tempo até atingir o máximo (50 $\mu\text{g/mL}$).

Também é possível observar que a concentração de 5 µg/mL de óleo provocou alta mortalidade no primeiro período e no último, não demonstrando grande eficiência às 48 horas de exposição. Na concentração de 20 µg/mL, os primeiros dois períodos apresentaram porcentagem semelhante, porém a porcentagem aumentou no terceiro período. Isso demonstra que algumas das concentrações são mais eficientes logo que entram em contato com as larvas, provocando elevados números de mortes nas primeiras horas. Enquanto em outras, é necessário o passar do tempo para que então comece a causar mortes significativas.

Os resultados deste trabalho corroboram com os encontrados por Scalvenzi et al. (2019), em estudos recentes descreveram o efeito larvicida dos óleos de *Ocimum campechianum*, *Ocotea quixos* e *Piper aduncum* sobre larvas de *A. aegypti*, observaram que com o aumento da concentração havia aumento da mortalidade, com exposição de 24 horas, chegando a 100% nas concentrações maiores (12,5; 25; 37,5; 50; 100; 250; 500; e 1000 µg/mL).

Entretanto, as porcentagens de mortalidade resultantes deste trabalho demonstraram-se menores, em relação ao período avaliado, exceto pela concentração de 12,5 µg/ml de óleo de *O. quixos*, que apresentou zero mortalidade no período de 24 horas, enquanto neste trabalho a menor concentração (5 µg/mL) apresentou efeito toxicológico de 7,5%, que foi aumentando até 42,5% na maior concentração (75 µg/mL).

Como as características de um óleo essencial podem variar de acordo com fatores abióticos, como a temperatura, a concentração com maior potencial larvicida (75 µg/ml) foi submetida a testes com variadas temperaturas. Os resultados do teste de Tukey para as médias transformadas $((Y+1)^{0,5})$ e a eficiência em diferentes temperaturas encontra-se na tabela 3.

Tabela 3: Teste de média de mortalidade e comparação da eficiência do óleo essencial de *Ocotea* sp. a 75 µg/ml sobre larvas de *Aedes aegypti* em diferentes temperaturas. Crato-CE, 2019.

Temperatura (°C)	Mortalidade	Eficiência (%)		
		24	48	72
15	2,1 c	100	100	100
20	2,1 c	85	97	100
25	2.0 c	91	97	100
30	2.2 b	97	98	100
35	2.4 a	97	100	100

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que a temperatura de 35°C foi estatisticamente a melhor em relação das demais, pela média geral de todo o período de exposição, seguida pela temperatura de 30°C, enquanto que não houve diferenças estatísticas entre as demais. Entretanto, ao se atentar a eficiência do óleo percebe-se que a temperatura de 15 °C provocou 100% de mortalidade das larvas após 24 horas de exposição. As demais temperaturas apresentaram acima de 80% no mesmo período de tempo, entretanto só chegaram a 100% após 72 horas, exceto 35 °C que provocou 100 de mortalidade depois de 48 horas. Pela eficiência, as temperaturas extremas provocaram mais mortes de larvas, enquanto que as medianas apresentaram aumento gradativo.

Possivelmente este seja o primeiro trabalho que testou a atividade larvicida de um mesmo óleo essencial em diferentes temperaturas, logo dificulta interpretar melhor os dados. Entretanto, alguns autores estudaram a influência da temperatura no ciclo de vida dos mosquitos do gênero *Aedes*, pois Beserra et al. (2009), analisou o comportamento desse vetor da fase de ovo a emergência do adulto em variadas temperaturas (18, 22, 26, 28, 32 e 34 ± 2°C) e observaram que o período de desenvolvimento do inseto diminui conforme a temperatura aumentou, não havendo eclosão de larvas na menor temperatura (18°C) e concluíram que a temperatura ideal para o desenvolvimento do mosquito está entre 22 e 32 °C. Então, nas temperaturas extremas, possivelmente, as larvas ficaram mais susceptíveis ao efeito do óleo, por não ser a faixa ideal para sua sobrevivência.

Nas temperaturas de 35 e 15° C, houve alterações morfológicas de algumas larvas mortas que apresentaram uma cor mais escurecida e um curvamento no corpo (figura 2).

Figura 2: Alteração morfológica nas larvas de *Aedes aegypti*. (A) larvas da testemunha e a 35°C (B).. submetida ao óleo de *Ocotea sp.* Crato-CE, 2019

Fonte: Própria (2019)

Efeito semelhante foi encontrado por Oliveira et al. (2013), que observaram larvas mortas, com bordas escurecidas e com corpo encurvado num experimento em que avaliou a

atividade larvicida do óleo essencial de *Piper aduncum* L. sobre larvas de *A. aegypti*.

A partir dos resultados pode-se dizer que as plantas da FLONA possuem potencial larvicida frente às larvas do vetor do vírus da dengue, dependendo da concentração utilizada e que o óleo essencial de *Ocotea sp.* Possui elevada eficiência larvicida, mesmo em baixas concentrações, e em diversas temperaturas, podendo então ser um recurso no controle desse mosquito. Ainda são necessários estudos mais aprofundados, para descobrir quais compostos agem sobre as larvas do inseto, entretanto os resultados foram promissores.

Conclusões

Os óleos essenciais de Pequi, Cajuí, Alecrim-do-campo e Pau d'óleo apresentam baixa atividade larvicida na concentração testada.

O óleo de Louro Cheiroso é eficaz em todas as concentrações testadas, apresentando maior efeito toxicológico na concentração de 75 µg/mL.

O Louro Cheiroso aplicado a 75 µg/ml e submetido a uma temperatura de 35 °C causa maior mortalidade às larvas de *Aedes aegypti* em condições de laboratório.

O uso de óleos essenciais no controle de *Aedes aegypti* é uma alternativa ecologicamente viável, mas são necessários ainda estudos para identificação dos compostos químicos.

Referências

ANSARI, M. A., MITTAL, P. K., RAZDAN, R. K., & SREEHARI, U. Larvicidal and insect repellent activities of pine (*Pinus longifolia*, Family: Pinaceae) oil. **Journal veterinary borne disease**, v.42, p.95-9, 2005.

BALCAZAR, A.L. **Hipótese da aparência na dinâmica do uso de plantas medicinais na Floresta Nacional do Araripe (Ceará, Nordeste do Brasil)**, 83f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

BESERRA, E. B., FERNANDES, C. R., SILVA, S. A. D. O., SILVA, L. A. D.,; SANTOS, J. W. D. Efeitos da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Iheringia. Série Zoologia**, 2009.

BHATT, S., GETHING, P. W., BRADY, O. J., MESSINA, J. P., FARLOW, A. W., MOYES, C. L., ... & MYERS, M. F. The global distribution and burden of dengue. **Nature** , v. 496, n. 7446, p. 504, 2013.

BOWMAN, D.D. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. 8.ed. Barueri: Manole, 2006. 422p.

CANSIAN, R. L., MOSSI, A. J., PAROUL, N., TONIAZZO, G., ZBORALSKI, F., PRICHOA, F. C., LERIN, L. A. Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (VELL.) ROWHER). **Perspectiva**, v. 34, n. 127,p.?, 2010.

CAVALCA, P. A. M., LOLIS, M. I. G. D. A., Reis, B., Bonato, C. M. Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinerea* essential oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 835-843, 2010.

CHAMPAGNE, D. E., KOUL, O., ISMAN, M. B., SCUDDER, G. G.; TOWERS, G. N. Biological activity of limonoids from the Rutales. **Phytochemistry**, v.31, p.377-94, 1992.

COELHO, C. A. A., DE SOUZA, N. A., FEDER, M. D., SILVA, C. E. D., GARCIA, E. D. S., AZAMBUJA, P., ... RANGEL, E. F. Effects of Azadirachtin on the development and mortality of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Jornal of Medical Entomology**, v.43, p.262-6, 2006.

COSTA, J. D., SANTOS, P. F. D., BRITO, S. A., RODRIGUES, F. F., COUTINHO, H. D., BOTELHO, M. A., LIMA, S. G. D. Composição química e toxicidade de óleos essenciais de espécies de Piper frente a larvas de *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 3, p. 463-7, 2010.

DA SILVA, T. I., ALVES, A. C. L., DE AZEVEDO, F. R., MARCO, C. A., DOS SANTOS, H. R., & ALVES, W. S. Efeito larvicida de óleos essenciais de plantas medicinais sobre larvas de *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 2017.

DE ANDRADE PORTO, K. R., ROEL, A. R., MACHADO, A. A., CARDOSO, C. A. L., & DE OLIVEIRA, J. M. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 4, p.?, 2013.

DE OLIVEIRA, J. A., GARCIA, F., DA SILVA, H. H. G., DA SILVA, I. G. Activity of hexanic and methanolic fractions of *Copaifera langsdorffii* Desf.(Leguminosae-Caesalpinoideae) on larvae of *Aedes aegypti*, in field assay. **Revista Eletrônica de Biologia (REB)**. ISSN 1983-7682, v. 8, n. 2, p. 216-229, 2015.

DUA, V. K., PANDEY, A. C., RAGHAVENDRA, K., GUPTA, A., SHARMA, T., DASH, A. P.. Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. **Malaria journal**, v. 8, n. 1, p. 124, 2009.

FEITOSA, I.S. **Etnobotânica e extrativismo de *Stryphnodendron coriaceum* benth. na Floresta Nacional do Araripe, Nordeste do Brasil**. 82f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

GUIMRÃES, V. H. D., SILVA, J. N. B., DE PAULA, S. L. A., DE OLIVEIRA, M. B., & MELO, G. A. **Efeito larvicida do extrato hidroalcoólico da casca do fruto do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sobre *Aedes aegypti* – resultados parciais**.

GUIRADO, M. M.O; BICUDO, H. E. M. de C. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **BEPA. Boletim**

Epidemiológico Paulista (Online), v. 6, n. 64, p. 5-14, 2009.

IBAMA, **Áreas de Proteção Ambiental**. Disponível em: [http:// www.ibama.gov.br](http://www.ibama.gov.br) Acesso em: 30 de março de 2019.

LANDIM, L.P; COSTA, J.G.M. *Dimorphandra gardneriana* Tulasne – Uma abordagem etnobotânica e riscos de extinção. **Revista da Biologia**, v.9, n.1, p.6-11, 2012.

LEITE, N. F. ; SOUZA, C. E. S. ; ALBUQUERQUE, R. S. ; BRITO, D. I. V. ; LAVOR, A. K. L. S. ;ALENCAR, L. B. B. ; TINTINO, S. R. ; FERREIRA, J. V. A. ; FIGUEREDO, F. G. ; LIMA, L. F. ; CUNHA, F. A. B. ; PINHO, A. I. ; COUTINHO, H. D. M. Atividade antiparasitária *in vitro* e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.18, p. 522, 2013.

LEYVA, M., MARQUETTI, M. D. C., TACORONTE, J. E., SCULL, R., TIOMNO, O., MESA, A., & MONTADA, D. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae). **Revista Biomédica**, v. 20, n. 1, p. 5-13, 2009.

LIMA, E. P., PAIVA, M. H. S., DE ARAÚJO, A. P., DA SILVA, É. V. G., DA SILVA, U. M., DE OLIVEIRA, L. N. & WILDING, C. S. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 5, 2011.

MAAR, J. H.; ROSENBROCK, L. C. C. A química fina que poderia ter sido: a extração de óleo de sassafrás e de safrol no alto e médio vale do Itajaí. **Scintiae Studia**, v. 10, n. 4, p. 799-820, 2012.

MACEDO, D.G. **Bioprospecção, disponibilidade e conservação de plantas medicinais em um enclave de cerrado na Chapada do Araripe, Nordeste do Brasil**. 149f. Dissertação (Mestrado em bioprospecção molecular). Universidade Regional do Cariri, Crato-CE, 2013.

MACORIS, M. D. L. D. G., ANDRIGHETTI, M. T. M., WANDERLEY, D. M. V., & RIBOLLA, P. E. M. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 5, p. 573-578, 2014.

MATIAS, R., SÓLON, S., RESENDE, U. M., GOMES, A., & KOLLER, W. W. *Melia azedarach*, Uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. **Ensaio e Ciência**, v.6, p.91-121, 2002.

MULLA, M.S.; TIANYUN, S. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medicinal and veterinary importance. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.15, n.2,p.133-52, 1999.

NAKATANI, M., ABDELGALEIL, SA, SAAD, MM, HUANG, RC, DOE, M. E IWAGAWA, T.Limonoids from *Chukrasia tabularis*. **Phytochemistry**, v.65, p.2833-41, 2004.

NATHAN, S. S., SAVITHA, G., GEORGE, D. K., NARMADHA, A., SUGANYA, L., &

CHUNG, P. G. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Bioresource Technology**, v.97, p.1316-23, 2005.

OLIVEIRA, G. L., CARDOSO, S. K., LARA JUNIOR, C. R., VIEIRA, T. M., GUIMARÃES, E. F., FIGUEIREDO, L. S., KAPLAN, M. A. C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L.(Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1227-1234, 2013.

PEREIRA, P. S. ; BARROS, L. M. ; BRITO, A. M. ; DUARTE, A. E. ; MAIA, A. J. Uso da *Myracrodruon urundeuva* (Lentisco) por los agricultores en el tratamiento de enfermedades. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.19, p. 1-7, 2014.

PINHO, A.; WALLAU, G. L.; NUNES, M.E.M.; LEITE, N.F.; TINTINO, S.R.; DA CRUZ, L. C.; DA CUNHA, F.A.B.; DA COSTA, J.G.M.; COUTINHO, D.M.H.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. Fumigant activity of the *Psidium guajava* var. Pomifera (Myrtaceae) Essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity** (Print), v. 2014, p. 1-8, 2014.

PINTO, A. C., SILVA, D. H. S., BOLZANI, V. D. S., LOPES, N. P., & EPIFANIO, R. D. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, p.45-61, 2002.

PORTO, K. R., MOTTI, P. R., YANO, M., ROEL, A. R., CARDOSO, C. A., & MATIAS, R. Screening of plant extracts and fractions on *Aedes aegypti* larvae found in the state of Mato Grosso do Sul (Linnaeus, 1762)(Culicidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 2, p. 895-906, 2017.

REICHERT, J. R. Estudo do efeito repelente, inseticida do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC no controle de insetos (*Sitophilus zeamais*) em grãos de milho armazenados. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, p. 1-5, 2013.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, p.43-50, 2001.

SANTANA, H. T., TRINDADE, F. T. T., RG, S., SILVA, A. A. E., MILITÃO, J. S. T. L., & FACUNDO, V. A. Essential oils of leaves of Piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 105-111, 2015.

SCALVENZI, L., RADICE, M., TOMA, L., SEVERINI, F., BOCCOLINI, D., BELLA, A., ... & ROMI, R. Larvicidal activity of *Ocimum campechianum*, *Ocotea quixos* and *Piper aduncum* essential oils against *Aedes aegypti*. **Parasite**, v. 26, n.?, p.?, 2019.

SHAALAN, E. A. S., CANYON, D., YOUNES, M. W. F., ABDEL-WAHAB, H., MANSOUR, A. H. . A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v.31, p.1149-66, 2005.

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Eds.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRS/UFSC, 2004. 586p

SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 173p.

SOBRAL-SOUZA, C. E. ; LEITE, N.F. ; CUNHA, F.A.B. ; PINHO, A.I. ; ALBUQUERQUE, R.E S.; CARNEIRO, J.N.P. ; MENEZES, I.A.; COSTA, J.G.M. ; FRANCO, J.L. ; COUTINHO, H. D.M. Cytoprotective effect against mercury chloride and bioinsecticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam. **Arabic Journal Chemistry**, v. 7, p. 165-170, 2013.

SOUZA, R.K.D. **Etnofarmacologia de plantas medicinais do carrasco no Nordeste do Brasil**. 83f. Dissertação (Mestrado em bioprospecção molecular). Universidade Regional do Cariri, Crato-CE, 2012.

VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; DA CUNHA, R.V. **Dengue: teorias e práticas**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2015, p.?

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue and severe dengue**. World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean, 2014.