




CAPÍTULO 4

ATIVIDADE LARVICIDA DA ÓLEORRESINA DOS FRUTOS DE *PTERODON EMARGINATUS* VOGEL CONTRA LARVAS DE *AEDES AEGYPTI*

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.246142513104>

Laura Borges Ferreira

Universidade Estadual de Goiás (UEG)

Camila Aline Romomano

Universidade Federal de Goiás (UFG)

Emerith Mayra Hungria Pinto

Universidade Estadual de Goiás (UEG)

Leandra de Almeida Ribeiro Oliveira

Universidade Estadual de Goiás (UEG)

Ana Carla Peixoto Guissoni

Universidade Estadual de Goiás (UEG)

RESUMO: As arboviroses são doenças virais transmitidas pelo mosquito *Ae. aegypti*. Na busca de alternativas ao controle do *Ae. aegypti*, produtos de origem vegetal podem ser uma alternativa de menor toxicidade, por apresentar baixo impacto ambiental. Várias pesquisas têm sido desenvolvidas no intuito de se encontrar novos compostos inseticidas de origem vegetal. Neste trabalho, usou-se os frutos de *Pterodon emarginatus* (sucupira), planta comumente encontrada no Cerrado goiano, na busca de compostos com atividade larvicida contra o *Ae. aegypti*. Os frutos da *P. emarginatus* foram coletados no município de Bela Vista de Goiás. A extração da oleorresina dos frutos de sucupira foi realizada por prensagem mecânica a frio. Para os bioensaios, foi preparado uma solução-mãe a 100 ppm com óleo e solubilizados em DMSO. Em seguida, a solução foi diluída em dimetilsulfóxido sucessivamente até 5 ppm. Foram utilizadas 20 larvas de 3º estágio de *Ae. aegypti*. As leituras da mortalidade foram realizadas após 24h de exposição das larvas a solução. A avaliação da persistência do efeito larvicida do óleo de *P. emarginatus*

também foi realizado. Todos os ensaios foram feitos em triplicatas. As CL_{50} e CL_{90} do óleo foram, respectivamente, 42,7 µg/mL e 65,9 µg/mL após 24 horas de exposição. O óleo de *P. ermarginatus* apresentou efeito residual de nove dias. Esses resultados demonstram o potencial dessa planta como larvicida contra *Ae. aegypti*. Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que o óleo do fruto de *P. ermarginatus* é promissor na pesquisa para o desenvolvimento de produtos para o controle do *Ae. aegypti*, o principal vetor das arboviroses.

PALAVRAS CHAVES: Arboviroses, *Aedes aegypti*, *Pterodon emarginatus*.

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por vetores afetam mais de 1 bilhão de pessoas e causam a morte de cerca de 1 milhão de indivíduos em todo o mundo. Os artrópodes vetores são responsáveis pela transmissão de muitas doenças tropicais negligenciadas, principalmente entre as populações mais pobres, onde não há acesso à moradia adequada, água potável e saneamento básico. Pessoas desnutridas e com imunidade enfraquecida são especialmente suscetíveis a essas doenças (OMS, 2022 a).

Os artrópodes vetores (arbovírus) são responsáveis por transmitir alguns vírus, como: Dengue, Febre amarela, Chikungunya e Zika, são ameaças atuais à saúde pública em áreas tropicais e subtropicais do mundo, onde vivem aproximadamente 3,9 bilhões de pessoas. A frequência e a magnitude dos surtos desses arbovírus, particularmente aqueles transmitidos pelos mosquitos do gênero *Aedes aegypti*, estão aumentando globalmente, pela combinação de fatores ecológicos, econômicos e sociais (OMS, 2022b).

Os países tropicais são infestados pelos mosquitos do gênero *Aedes*, sobretudo o *Aedes aegypti*, que é um dos principais vetores na transmissão das arboviroses (Simmons *et al.*, 2012; WHO, 2022b). Esse mosquito possui desenvolvimento holometabólico, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adultos. São antropofílicos e, por serem altamente adaptados ao meio urbano, reproduzem em porções de água dentro das habitações humanas, especialmente onde encontram lugares propícios à proliferação dos seus criadouros (garrafas, pneus, latas, copos descartáveis etc.). Assim, as populações vulneráveis em regiões tropicais e subtropicais são as mais afetadas por esse vetor e muitas estão ameaçadas pela circulação de vários arbovírus (WHO, 2022b).

No Brasil o programa de controle desse mosquito é feito por meio de aplicações de inseticidas (Clotianidina + Deltametrina), para o tratamento residual em pontos estratégicos (borracharias, ferros-velhos etc.) e, adulticidas (Imidacloprido + Praletrina), para aplicação espacial (UBV) (Brasil, 2019; Brasil, 2022). Assim, a principal medida desses programas é a aplicação de inseticidas químicos e sintéticos, tanto larvicidas

quanto aduclticias. Estes controles químicos, porém, têm sido associados a problemas como o aparecimento de resistência de novas gerações do mosquito, agressão ao meio ambiente e a saúde da população, uma vez que a maioria dos criadouros está no ambiente doméstico (Valle *et al.*, 2019; Braga; Valle, 2007).

O controle químico de *Aedes aegypti* vem sofrendo restrições, tanto pelo aparecimento de resistência aos produtos utilizados (Lima *et al.*, 2006), como pelas consequências que o uso em larga escala de larvicidas e inseticidas de aplicação espacial podem causar ao meio ambiente. Consequências como a eliminação de insetos benéficos, a contaminação do meio ambiente (solo, água, atmosfera e seres vivos) e intoxicações acidentais em pessoas devido à má utilização dos inseticidas têm sido observada e discutida (Beserra *et al.*, 2007).

Uma alternativa é o controle biológico, que consiste em utilizar organismos biológicos capazes de parasitar ou preda os mosquitos vetores. Tem sido utilizado vários produtos, como bactérias, fungos, peixes, artrópodes e plantas, para o controle de insetos, com alguns resultados promissores (Silva *et al.*, 2003; Neves, 2016). As buscas por medidas alternativas são necessárias, sobretudo por substâncias mais sustentáveis e que não sejam nocivas ao organismo, podendo se utilizar compostos de origem natural, como, por exemplo, as plantas (Peña, 2022).

Devido à grande biodiversidade, as plantas brasileiras sempre foram empregadas para diversos fins. Em algumas comunidades, o uso de derivados de plantas é a única fonte de recursos terapêuticos disponíveis (Simas *et al.*, 2004).

As plantas têm a capacidade de sintetizar metabólitos secundários que demonstram atividade contra insetos em geral ou de formas específicas. Essas substâncias agem no organismo dos insetos, levando à intoxicação e à morte (Mello; Silva, 2002). Alguns metabólitos de plantas podem gerar intoxicação nas larvas dos mosquitos ao inibirem a atividade da acetilcolinesterase e das enzimas digestivas. (Garcez *et al.*, 2013). Desta forma, substâncias extraídas de cascas, caules, folhas e frutos de diversas plantas têm demonstrado propriedades larvicidas no controle de diversos culicídeos (Menezes *et al.*, 2019; Romano *et al.*, 2018; Guissoniet *et al.*, 2013; Simas *et al.*, 2003).

No Brasil, pesquisas com plantas para biocontrole do *Aedes aegypti* tem grandes significado, já que as arboviroses causam morbidade e mortalidade de muitas pessoas todos os anos, representando gastos na saúde pública, devido aos investimentos para tratamento e hospitalizações de doentes (Brasil, 2022; Gomes, 2016). Todos esses fatores alertam o governo, a sociedade e a comunidade científica na busca por formas alternativas para o controle dos insetos vetores. Neste contexto, os bioinseticidas ou inseticidas naturais apresentam-se como uma opção econômica e ecologicamente viável.

Como exemplo de utilização de plantas, espécies vegetais coletadas no cerrado são usadas na cultura popular para diversos fins medicinais: a *Plathymenia reticulata* como anti-inflamatória, *Hymatanthus obovatus* usada como expectorante, *Struthanthus flexicaulis* como anticancerígeno (Honda et al., 1990; Medeiros et al., 2000; Silva et al., 2010). *Pterodon polygalaeflorus*, *Anacardium humile*, *Anacardium occidentale*, *Magonia pubescens*, *Croton argyrophylloides*, *Croton nepetaefolius*, com atividade larvídica (Menezes et al., 2019; Romano et al., 2018; Guissoni et al., 2013; Cavalcante et al., 2004; Simas et al., 2004).

As espécies: *Pterodon emarginatus*, *Piper pubescens* e *Pterodon polygalaeflorus* são alvos de pesquisas devido aos seus compostos secundários, que abrangem diversas áreas, como fitoquímica, bioquímica e farmacologia, conforme documentado por diferentes autores (Katz et al., 1993; Duarte et al., 1996; Carvalho; Caputo, 1999; Paula et al., 2005).

Foram identificados diterpenóides de furano, sesquiterpenos e a estrutura de diterpenóides vouacapano, nos óleos frutíferos de plantas pertencentes ao gênero *Pterodon*, representados na (Figura 1) (Zamora et al., 2005). Em relação às propriedades bioativas do óleo extraído dessas plantas, relatos indicam toxicidade em larvas de *Aedes aegypti*, sendo que compostos diterpenos são associados a esse efeito (Pimenta et al., 2006; Omena et al., 2006).

O óleo de sucupira apresenta composição química distinta e ocorrência de polimorfismo químico com a presença de 34 compostos diferentes. Foram identificadas as presenças de trans-cariofileno (35,9%), β -elemeno (15,3%), germacreno D-(9,8%), α -humuleno (6,8%), espatulenol (5,9%), biciclogermacreno (5,5%) e diterpenos como 6 α -7 β diacetoxivouacapan-17 β -oato de metila (Neto, 2015). O óleo extraído dessa planta tem mostrado diversas atividades biológicas, incluindo uma forte propriedade larvídica contra o mosquito *Aedes aegypti*. (Oliveira et al., 2016; Menezes et al., 2019).

Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial larvídica da óleorresina dos frutos de *Pterodon emarginatus* em larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*.



Figura 1- (A) Árvore de *Pterodon emarginatus* vogel, (B) Frutos maduros de *Pterodon emarginatus* Vogel. Fonte: Carvalho, 2023.

ARBOVIROSES

O termo arbovírus vem das palavras em inglês “arthropod-borne” e compreende uma diversidade de vírus transmitidos pela picada de artrópodes hematófagos. Esses vírus são transmitidos aos seres humanos e outros animais dessa forma. Estima-se que existam mais de 545 espécies de arbovírus, das quais mais de 150 estão relacionadas às doenças em seres humanos (Estrela, 2019).

A espécie *Aedes aegypti* é a principal responsável pela transmissão dos vírus da Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela, estando diretamente relacionada a episódios de epidemias de arboviroses em países de clima tropical (Silva, 2017; Ramos, 2017).

Os arbovírus tornam-se uma ameaça importante e contínua em regiões tropicais devido às rápidas alterações climáticas, ao desflorestamento, à migração populacional, à ocupação desordenada de áreas urbanas e às condições de saneamento básico precárias, que favorecem a amplificação e propagação do vírus (Almeida, 2020).

O vírus da dengue (DENV) pertence à família Flaviviridae, é considerado um dos agentes patológicos emergentes de grande importância para a saúde pública. A expansão geográfica do DENV levou à circulação de quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4). (Chaves, 2021)

Atualmente apresenta duas vacinas aprovadas para a dengue: **Dengvaxia** (CYD-TDV), produzida pela Sanofi Pasteur, é recomendada para pessoas que moram em áreas endêmicas e que já tiveram contato com o vírus com idade de 9 aos 45 anos. **Qdenga**(TAK-003): Desenvolvida pela Takeda. É recomendada para pessoas de 4 a 60 anos, administrada em duas doses com intervalo de 3 meses (Malisheni, 2017; White, 2021).

A febre amarela foi a principal doença epidêmica que atingiu o Brasil durante o final do século XIX e o começo do século XX, preocupando a saúde pública nacional (Teixeira, 2001). A febre amarela é uma doença viral causada por flavivírus transmitido principalmente pela picada de mosquitos infectados. Os sintomas podem variar de febre, dores musculares e de cabeça a icterícia grave e hemorragias. A vacinação é a principal medida de prevenção contra a febre amarela, especialmente em áreas endêmicas. A doença ocorre em regiões tropicais da África e das Américas, com surtos esporádicos e epidemias ocasionais (Silva, 2017).

O vírus Chikungunya (CHIKV) foi inicialmente descrito na África, durante uma epidemia ocorrida na Tanzânia entre 1952-1953. No Brasil, o primeiro caso de transmissão ocorreu na cidade de Oiapoque, no Amapá, em setembro de 2014. Rapidamente, o Chikungunya se espalhou pelo país (Paho, 2014). Populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, oriundas de diferentes países das Américas,

demonstraram que ambas as espécies são altamente competentes para se infectarem e transmitirem esse arbovírus (Silva, 2017).

As primeiras investigações sobre a introdução do Zika vírus no Brasil sugerem que sua entrada tenha ocorrido em 2014, durante a Copa do Mundo de Futebol Masculino, sediada no país. A principal via de transmissão do Zika vírus aos seres humanos é através da picada de mosquitos fêmeas infectadas. Além da transmissão perinatal, relatam-se casos de transmissão por transfusão sanguínea e sexual, sendo esses de rara ocorrência (Ferreira *et al.*, 2016; Silva, 2017).

AEDES AEGYPTI

O *Aedes aegypti* é um mosquito de origem africana que chegou ao Brasil durante o período colonial através das embarcações. Ele se adaptou bem ao ambiente urbano e se espalhou amplamente pelo país ao longo dos anos.

Em 1913, a Fundação Rockefeller deu início à luta contra o *Aedes aegypti* no Brasil, lançando campanhas para erradicar o mosquito. Décadas depois, em 1947, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) se juntaram à iniciativa, intensificando os esforços. Essa colaboração incansável culminou em um marco histórico: em 1956, o Brasil declarou a erradicação do *Aedes aegypti*. No final da década de 1960, em função de falhas na vigilância epidemiológica e de mudanças sociais e ambientais decorrentes da urbanização acelerada dessa época; levou à reintrodução do vetor em território nacional. (Martins, 2002; Braga, 2024).

O mosquito *Aedes aegypti* pertence à ordem Díptera, família Culicidae, gênero *Aedes*. Possui metamorfose completa (holometabólica) e seu ciclo de vida compreende quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (Figura 2). A duração do ciclo do ovo até a fase adulta, em condições favoráveis, dura cerca de 5 a 10 dias (CDC, 2023).

É um mosquito rajado, de coloração escura, com manchas brancas pelo corpo. Sua identificação é facilitada pelo desenho em forma de lira presente no seu dorso, a qual pode ser observada a olho nu (Figura 3) (Natal, 2002).

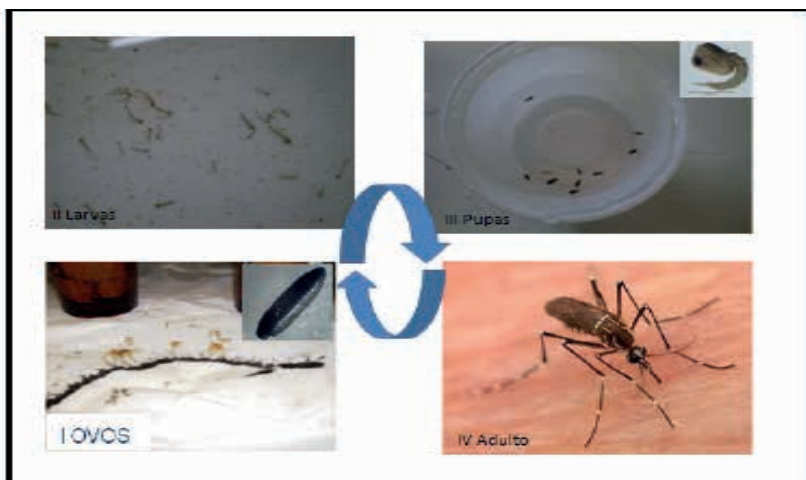


Figura 2 - Ciclo Biológico do *Aedes aegypti*. Imagens da criação cíclica mantida no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos, IPTSP/UFG.

Os ovos do *Aedes aegypti* medem aproximadamente 1 mm de comprimento e possuem um contorno alongado e fusiforme. As fêmeas depositam cerca de 300 a 750 ovos individualmente nas paredes internas dos depósitos, próximo à superfície da água. No momento da postura, os ovos são brancos, mas rapidamente adquirem uma cor negra e brilhante (Funasa, 2001). Já a fase larvária pode depender da temperatura e da disponibilidade de água e alimento, sendo mais comum durar de 2 a 3 dias até se tornarem adultos (Rocha, 2011).

Após 24 horas da eclosão, os mosquitos já podem voar e se reproduzir. Os machos se alimentam de seiva, enquanto as fêmeas realizam a hematofagia para a maturação dos ovos. Os mosquitos vivem, em média, 30 dias e apresentam dimorfismo sexual: os machos possuem antenas plumosas e as fêmeas antenas pilosas (Figura 3) (Santana, 2012; Silveira, 2018).



Figura 3 - Representa o dimorfismo sexual do *Aedes aegypti*.

Fonte: Silveira, 2018.

O *Aedes aegypti* é um mosquito doméstico que vive dentro e ao redor das residências, seus criadouros são locais onde o mosquito encontra condições ideais para depositar seus ovos e desenvolver suas larvas. Esses ambientes incluem recipientes com água parada, como: caixas d'água, pneus, garrafas, ralos, canaletas e vasos de plantas, apresentados na Figura 4 e 5(Brasil, 2013).

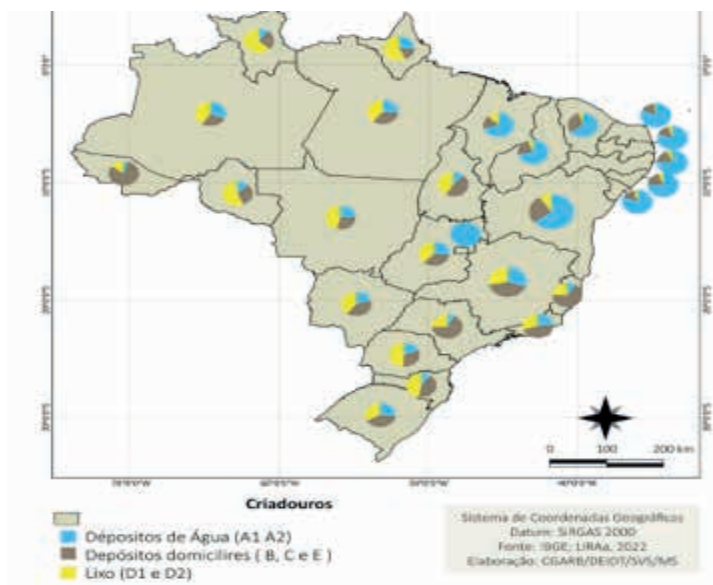


Figura 4 - Tipos de depósitos/criadouros predominantes por UF, 4 Levantamento Entomológico, Brasil, 2022.

Fonte: Brasil, 2023.

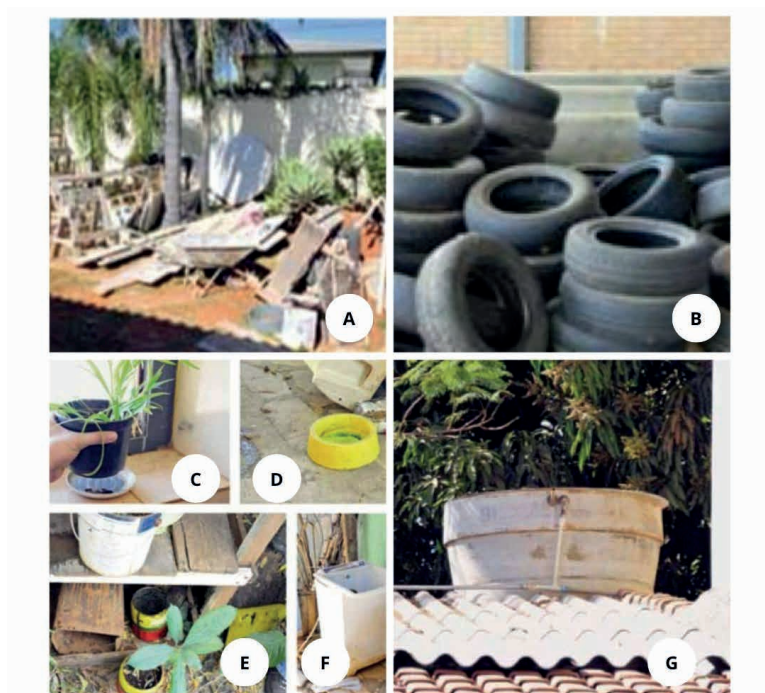


Figura 5 - Potenciais criadouros de larvas *Aedes* spp. entulho de construção (A), pneus (B), vaso de planta (C), bebedouro (D), pote (E), tanquinho parado (F), caixa d'água.

Fonte: Brasil, 2023.

A capacidade de adaptação do *Aedes aegypti* o torna um vetor de difícil controle no ambiente e um grave problema de saúde pública, causando epidemias, principalmente em regiões tropicais, onde condições socioambientais, climáticas e ecológicas favorecem a sua proliferação e contribuem para a circulação dos arbovírus (Figura 6).

Fatores socioeconômicos, como a de coleta de lixo precária, falta de saneamento básico, abastecimento de água inadequado e expansão geográfica (Figura 6 e 7), representam determinantes sociais que favorecem a expansão das arboviroses, assim como as condições climáticas (temperatura, altitude e umidade do ar), que interferem no ciclo de vida dos mosquitos. O desequilíbrio ambiental e as consequentes mudanças climáticas são também fatores importantes. Além disso, a educação desempenha um papel crucial ao formar cidadãos conscientes, promovendo a mobilização social da população e incentivando mudanças de comportamento (Chaves, 2021).

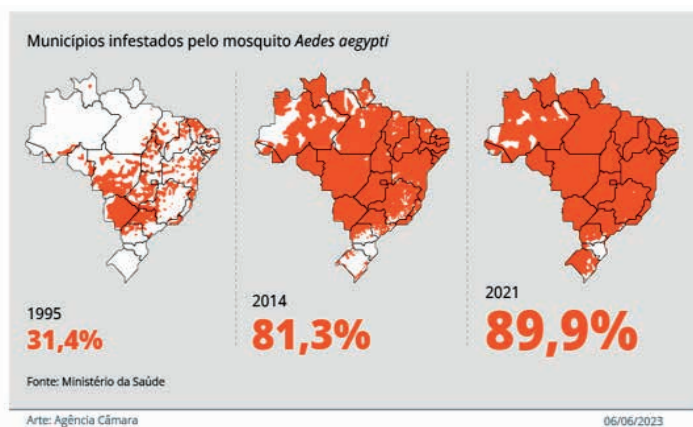


Figura 6 - Municípios infectados pelo mosquito *Aedes aegypti*. Fonte: Ministério da Saúde.



Figura 7 - Determinantes sociais da expansão das arboviroses.

CONTROLE QUÍMICO

O Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) começou a ser utilizado no Brasil para o controle do mosquito *Aedes aegypti* na década de 1940, como parte do Programa Nacional de Erradicação da Malária e para outras doenças transmitidas pelo vetor. No entanto, em 1960, começaram a ser questionados os efeitos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente causados pelo uso disseminado do DDT.

Os piretróides obtidos a partir dos componentes das flores secas do *Chrysanthemum cinerariaefolium*, atuam essencialmente como moduladores ao nível dos canais de sódio dos insetos (Figueiredo, 2014).

A capacidade do mosquito *Aedes aegypti* de resistir aos piretroides pode estar relacionada à sua resistência pré-existente ao DDT. O uso extensivo do DDT durante a década de 1950 para erradicar a malária teria contribuído para a seleção de

mosquitos resistentes a essa substância, levando posteriormente à resistência cruzada aos piretroides (Tuñon, 2024).

Os produtos químicos utilizados para a erradicação do *Aedes* acabam trazendo alguns problemas com o passar do tempo, como o desenvolvimento de resistência aos inseticidas pelos mosquitos, resultando na reprodução de gerações resistentes. Outros problemas gerados pelo controle químico observado são os impactos ambientais e a toxicidade para humanos e animais, o que tem levado a uma crescente procura por métodos alternativos (Pena, 2022).

CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico consiste em utilizar organismos biológicos capazes de parasitar ou preda os mosquitos, podendo ser estes produtos: bactérias, fungos, peixes, artrópodes e plantas, os quais têm sido avaliados no controle de insetos com alguns resultados promissores (Silva *et al.*, 2003; Neves, 2016).

No Brasil, os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE), em parceria com a população, são responsáveis por promover o controle mecânico e químico do vetor, cujas ações são centradas em detectar, destruir ou destinar adequadamente reservatórios naturais, ou artificiais de água que possam servir de depósito para os ovos do *Aedes* (Zara, 2016).

Como uma alternativa de controle químico, alguns compostos naturais, como óleos essenciais de plantas, têm sido investigados para constatação de atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. As características de determinados grupamentos químicos estruturais desses compostos ou a combinação entre eles podem conferir aumento, ou redução da atividade larvicida, não apenas como novos inseticidas, mas também por serem mais seguros para o meio ambiente, humanos e animais (Neves, 2016; Zara, 2016).

PTERODON EMARGINATUS

Pterodon emarginatus Vogel é uma espécie brasileira, encontrada no cerrado goiano, pertencente à família Fabaceae, conhecida popularmente como sucupira. Apresenta o tronco cilíndrico de 40 a 60 centímetros de diâmetro, revestido por casca lisa de cor branco amarelada, podendo atingir até 12 metros de altura. Suas flores são de cor rosada, dispostas em inflorescências paniculadas terminais. Os frutos são legumes do tipo sâmara arredondadas, indeiscentes e aladas, contendo uma única semente fortemente protegida em uma cápsula fibro-lenhosa e envolvida externamente por uma substância oleosa (Figura 1) (LORENZI; MATOS, 2002). Seu

óleo possui diversas atividades biológicas, incluindo potente propriedade larvívora contra o *Aedes aegypti* (Oliveira *et al.*, 2016).

Estudos fitoquímicos do gênero *Pterodon* mostraram a presença de isoflavonas e triterpenoides nas cascas do caule, esteroides nas folhas, isoflavonas e diterpenos nos frutos e sesquiterpenos no óleo essencial dos frutos. Os constituintes característicos desse gênero são diterpenos tetracíclicos de esqueleto vouacapano (Oliveira, 2018).

MATERIAS E MÉTODOS

Obtenção do material Botânico

Os frutos de sucupira (*P. ermarginatus*) foram coletados no município de Bela Vista de Goiás (847 m de altitude, 17°02'1,1" Sul, de 48° 49'03" Oeste) no mês de setembro de 2007. O material botânico foi identificado pelo Professor Dr. José Realino de Paula. A exsiccata foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, sob o número UFG-27155. Os frutos, após terem sido limpos e secos, foram submetidos à extração.

Obtenção da oleorresina

A extração da oleorresina dos frutos de sucupira foi realizada por prensagem mecânica a frio, utilizando mini prensa contínua (MPE-40 ECIRTEC). A prensagem foi realizada na empresa Ercirtec (Bauru, São Paulo). A oleorresina obtida dos frutos de sucupira foi pesada e armazenada em frascos hermeticamente fechados e mantidos a - 20 °C. O cálculo do rendimento do óleo foi feito pela razão entre a massa de óleo obtida por porcentagem e a massa de frutos utilizada. O rendimento da extração foi de 30% (m/n) (dado fornecido pela empresa Ercirtec) (Oliveira *et al.*, 2016).

Obtenção das larvas

As larvas foram obtidas de uma criação cíclica, mantida há mais de 30 anos no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos do IPTSP/UFG. A criação das larvas e mosquito do *Aedes aegypti* foi realizada em uma câmara biológica climatizada com temperatura 28 - 1 °C, umidade relativa de 80 - 5% e fotoperíodo de 12 horas, conforme a metodologia descrita por (Silva *et al.*, 1998). As larvas são criadas em bacias com água e alimentadas, imediatamente após a sua eclosão, com ração para gatos. Nas observações diárias, as exúvias são retiradas e as ecdises, anotadas. No estágio de pupa, elas são recolhidas e colocadas em um recipiente com água dentro de gaiolas, permanecendo até a emergência do adulto. Ao emergir o adulto, identifica-se o sexo, e são mantidos dentro das gaiolas para o acasalamento (Silva *et al.*, 1998).

Bioensaios com larvas

Os ensaios foram realizados utilizando-se larvas de 3º estágio, por serem as mais tolerantes em relações aos demais estágios (Silva *et al.*, 2003). Foi preparada uma solução-mãe a 100 ppm com óleo pré-solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), que em seguida foi diluída sucessivamente até 5 ppm. A quantidade de solvente utilizada para o preparo da solução foi previamente determinada por ensaios de tolerância sem mortalidade das larvas, e foi de 0,4%. No laboratório, os bioensaios foram realizados em copos descartáveis, com capacidade para 25 ml, com 20 larvas de 3º estágio, e as leituras da mortalidade foram feitas 24h de exposição das larvas as soluções. A mortalidade foi confirmada pela ausência de resposta a estímulos mecânicos, enrijecimento e escurecimento do corpo (Guissoni, 2013).

Observação das Larvas em Estéreo Microscópio (E.M.)

As larvas usadas na solução controle e na solução com a sucupira foram observadas em Estéreo Microscópio (E.M). A observação foi feita em sua fase letárgica até a sua morte em um microscópio (Leica MZ6) a fim de visualizar sua morfologia externa.

Efeito residual

Para verificar a persistência do efeito larvívoro do óleo de *P. emarginatus*, foram utilizadas 20 larvas L4 de *Ae. aegypti* expostas a 200 mL de solução com concentração letal de 90% em recipientes de poliestireno sob as condições laboratoriais. A solução teste utilizada nos bioensaios do efeito residual foi preparada conforme descrito no tópico 4.4. Depois de 24 horas de exposição das larvas ao óleo foram quantificadas e as larvas mortas foram substituídas por outras L4 sem renovação da solução teste. A exposição e contagem das larvas seguiram até a perda total do efeito letal (Romano *et al.*, 2018). Para o controle negativo foram utilizados água e DMSO e para o positivo controle, foi utilizado temefós (Abate®) na concentração de 0,012 µg/mL (dose recomendada para escala laboratorial). Todos os bioensaios foram realizados em triplicata.

Análise Estatística

Os dados obtidos da mortalidade x concentração (µg/ml) foram analisados pelo programa STATISTICA versão 10, em gráfico de Probit, para determinar as concentrações letais (CL50 e CL90) e os respectivos intervalos de confiança (IC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da morfologia externa das larvas, expostas ao óleo da *P. ermarginatus*, feita em E.M., pode-se observar enrijecimento e escurecimento do corpo (característico de morte da larva). Foi observado também um princípio de extrusão da matriz peritrófica, como podemos visualizar na Figura 8. A matriz peritrófica é responsável pela proteção do epitélio, pois funciona como uma barreira de defesa no corpo do inseto. Esses resultados são interessantes, já que se trata de uma substância de origem vegetal que tem potencial de destruir uma barreira de defesa do corpo do inseto. Estudos futuros da morfo-histologia da larva são necessários para comprovar o possível mecanismo de morte.

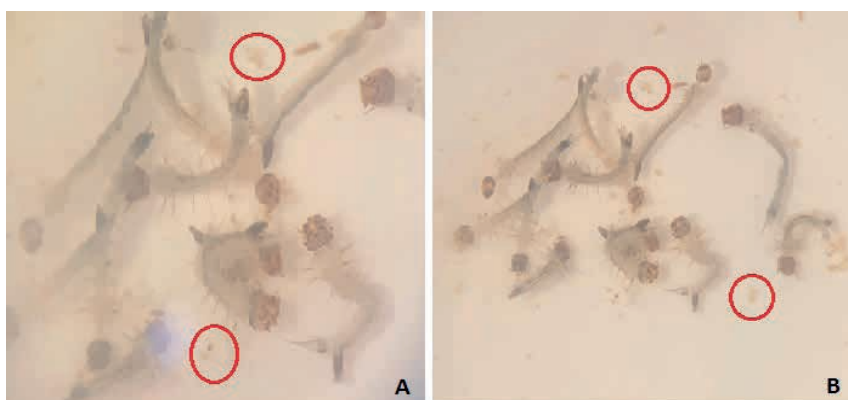


Figura 8 - Morfologia externa das larvas de *Aedes aegypti*, expostas ao óleo da *P. ermarginatus*. Figuras A e B observa-se nos círculos fragmentos da matriz peritrófica.

Tendo como objetivo a busca de novos produtos naturais que possam ser utilizados como larvicidas, a oleoresina dos frutos de *P. ermarginatus* após 24h de exposição das larvas, apresentou CL_{50} 42,7 (42,0 - 43,4) $\mu\text{g/mL}$ e CL_{90} 65,9 (64,5 - 67,3) $\mu\text{g/mL}$.

Estudos realizados por Oliveira *et al.* (2023) com óleo do fruto de *Citrus reticulat*, que tem como principal substância ativa o limoneno, em larvas de *Ae. Aegypti*, obtiveram uma CL_{50} = 58,35 $\mu\text{g/mL}$, após 24h de exposição das larvas. O trabalho realizado por Cansian *et al.*, (2023) com larvas de *Aedes aegypti* obteve CL_{50} de 111,84 $\mu\text{g/mL}$ para o óleo de *Cymbopogon winterianus*. A análise feita por Gomes *et al.*, (2016), com *Zingiber officinale* apresentou CL_{50} de 76,07 $\mu\text{g/mL}$. França *et al.*, (2015) analisou a atividade larvicida do óleo essencial de *Piper Capitarianum* sobre larvas de *Aedes aegypti* e *Anopheles sp.*, após 24 horas de exposição aos óleos, obteve CL_{50} de 173,94 e CL_{90} de 347,77 $\mu\text{g/mL}$.

Uma vez que a Organização Mundial da Saúde (OMS) não estabeleceu um critério para determinar a atividade larvicida de produtos naturais, vários autores desenvolveram critérios individuais para caracterizar a potência dos larvicidas: produtos que apresentem $CL_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL (ppm)}$ são ativos, $50 \mu\text{g/mL} < CL_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ são moderadamente ativo, e $CL_{50} > 750 \mu\text{g/mL}$ são inativo (Massebo *et al.*, 2009; Komalamisra *et al.*, 2005). Esses resultados sugerem que o óleo de *P. ermarginatus* apresentou potencial larvicida significativo.

O óleo de *P. ermarginatus* apresentou efeito residual de nove dias (Figura 9) com 100% de larvas mortas em um dia de exposição. A mortalidade de 50% das larvas foi observada por três dias de exposição. Resultados superiores foram observados para o óleo de *P. polygalaeflorus* que apresentou efeito residual de sete dias com 100% de larvas mortas até o quarto dia de exposição (Menezes *et al.* 2019). Os resultados obtidos com os óleos das espécies do gênero *Pterodon* apresentaram bons resultados por se tratar de espécies vegetais do cerrado, substâncias com baixa toxicidade para vertebrados e basicamente sem impacto ambiental (Oliveira *et al.*, 2016).

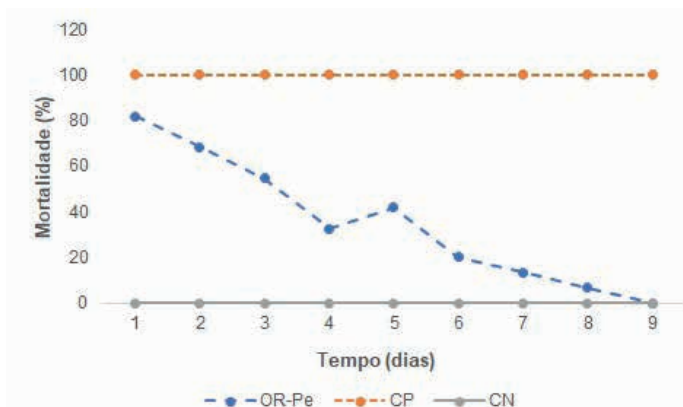


Figura 9 - Efeito residual do oleorresina *Pterodon ermarginatus* em Larvas de 4º estágio de *Ae. aegypti*. *Pterodon ermarginatus* (OR-Pe), Controle negativo (CN), Controle positivo (CP).

CONCLUSÃO

O óleo mostrou ação larvicida eficaz contra larvas de *Ae. aegypti* em laboratório. Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que o óleo do fruto de *P. ermarginatus* é promissor na pesquisa para o desenvolvimento de produtos para o controle do *Ae. Aegypti*, principal vetor de doenças como Dengue, Zika, Chikungunya e Febre amarela.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Lorena Sampaio; COTA, Ana Lúcia Soares; RODRIGUES, Diego Freitas. Saneamento, Arboviroses e Determinantes Ambientais: impactos na saúde urbana. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 3857-3868, 2020.

ALVES, Tânia Maria de Almeida *et al.* Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 367-373, 2000.

ARAÚJO, Helena Rocha Corrêa de *et al.* **Caracterização morfológica dos hemócitos do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus* e a resposta imune dos hemócitos do *Aedes aegypti* após a infecção pelo Dengue vírus.** 2011. Tese de Doutorado.

AVELINO-SILVA, Vivian Iida; RAMOS, Jessica Fernandes. Arboviroses e políticas públicas no Brasil/Arboviruses and public policies in Brazil. **Health Sciences Journal**, v. 7, n. 3, p. 1-2, 2017.

BESERRA, Eduardo B. *et al.* Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 303-307, 2007.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, out-dez, 2007.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. *Aedes aegypti*: history of control in Brazil. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 113-118, jun. 2007. Disponível em <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000200006&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 27 jun. 2024. <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742007000200006>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Levantamento rápido de índices para *Aedes aegypti*-LirAa-Para Vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil**, 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Nota Informativa Nº 30/2023-CGAR/DEDT/SVSA/MS**. Brasília, 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância Epidemiológica. Boletim Epidemiológico SVS** Volume 53 | N.º 7 | Fev. 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância Epidemiológica. Boletim Epidemiológico** | Secretaria de Vigilância em Saúde | | Nov. 2019

CANSIAN, R. L. *et al.* Toxicity and larvicidal activity on *Aedes aegypti* of citronella essential oil submitted to enzymatic esterification. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e244647, 2021.

Carvalho, C.S.; Cardoso, D.B.O.S.; Lima, H.C. *Pterodon* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB29842>>. Acesso em: 02 jun. 2023.

CARVALHO, José CT et al. Atividade antiinflamatória do extrato bruto dos frutos de *Pterodon emarginatus* Vog. **Revista de etnofarmacologia**, v. 64, n. 2, pág. 127-133, 1999.

CAVALCANTI, Eveline Solon Barreira et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 541-544, 2004.

CDC, Centers for DiseaseControlandPrevention, novembro 2023. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nccdp/dnpa/physical/measuring/>>. Acesso em: 10 novembro 2023.

CHAVES, Tatiany Liberal Dias et al. Casos de arboviroses e correlação com os indicadores de infestação vetorial, fatores climáticos e determinantes sociais de saúde. **Revista Principia-Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, n. 54, p. 71-82, 2021.

DUARTE, Igor DG et al. Evidência do envolvimento de aminas biogênicas no efeito antinociceptivo de um vouacapan extraído de *Pterodon polygalaeiflorus*Benth. **Revista de etnofarmacologia**, v. 55, n. 1, pág. 13-18, 1996.

ESTRELA, Jéssica Farias et al. Estrutura e patogênese das principais arboviroses humanas no Brasil. 2017.

FIGUEIREDO, Ana Catarina Pereira et al. **Piretróides: Uma nova geração de insecticidas**. 2014. Dissertação de Mestrado.

FERREIRA-DE-BRITO, Aniellyet al. Firstdetectionof natural infectionof *Aedes aegypti* with Zika virus in Brazilandthroughout South America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, p. 655-658, 2016.

FRANÇA, L.P; PINTO, A.C.S; AZEVEDO, S.G; CHAVES, F.C; TADEI, W.P. Composição Química e Atividade Larvicidada Óleo Essencialde Piper Capitarianum (Piperacea) Sobre *Aedes AegyptieAnophellessp.* (Culidae) em Laboratorio.Disponível em http://www.abq.org.br/cbq/trabalho_aceitos_detalhes_7842.html Publicado em 19/11/2015.

FUNASA, FNSMS. Dengue-Instruções para pessoal de combate ao vetor: Manual de Normas Técnicas. 2001.

GARCEZ, Walmir Silva et al. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GOMES, P.R.B; SILVA, A.L.S; PINHEIRO, H.A; CARVALHO, L.L; LIMA, H.S; SILVA, E.F; SILVA, R.P; LOUZEIRO, C.H; OLIVEIRA, M.B; FILHO, V.E.M. Avaliação da atividade larvídica do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Rev. Bras. Pl. Med., Campinas**, v.18, n.2, supl. I, p.597-604, 2016.

GOMES, P. R. B. *et al.* Avaliação da atividade larvídica do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, p. 597-604, 2016.

GUSSONI, A.C; SILVA, I.G.; GERIS, R.; CUNHA, L.C.; SILVA, H.H.G. Atividade larvídica de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, n.3, p.363-367, 2013.

HONDA, Neli Kika *et al.* Estudo químico de plantas de Mato Grosso do Sul I: triagem fitoquímica. **Campo Grande-MS, UFMS**, 1990.

KATZ, Naftaleet *al.* Atividade quimioprofilática na esquistossomose mansoni de sabonetes contendo óleo essencial de frutos de *Pterodon pubescens*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, p. 183-191, 1993.

KOMALAMISRA, N; TRONGTOKIT, Y; RONGSRIYAM, Y; APIWATHNASORN, C. 2005. **Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species**. *Southeast Asian Journal Trop Med Public Health*, 36 (6): 1412-1422.

LIMA, Estelita Pereira *et al.* Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 259-263, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil Nativas e Exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MALISHENI, Moffatet *al.* Eficácia clínica, segurança e imunogenicidade de uma vacina viva atenuada tetravalente contra dengue (CYD-TDV) em crianças: uma revisão sistemática com meta-análise. **Fronteiras em imunologia**, v. 8, p. 283714, 2017.

WHITE, Laura J. *et al.* Defining level of dengue virus serotype-specific neutralizing antibodies induced by a live attenuated tetravalent dengue vaccine (TAK-003). **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. e0009258, 2021.

MARTINS, Valéria do Sul. Dengue: histórico e distribuição, fatores determinantes da sua transmissão, aspectos clínicos, prevenção e controle, 2002.

MASSEBO F; TADESSE M; BEKELE T; BALKEW M, MICHAEL T.G 2009. Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against *Anopheles arabiensis* Patton and *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. **Afr J Biotechnol** 8: 4183-4188.

MEDEIROS, L.C.M. et. al. As plantas medicinais no cuidar da infância: **um guia teórico-prático**. Teresina: EDUFPI, 2000.

MELLO, Márcia O.; SILVA-FILHO, Marcio C. Interação planta-inseto: uma disputa evolutiva entre dois mecanismos de defesa distintos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 14, p. 71-81, 2002.

MENEZES, Armanda Amando Teles et al. Composição química, atividade larvicida e efeito residual de extratos oleosos de frutos de *Pterodon polygalaeflorus* (Benth.) Benth. (Fabaceae) contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 4, pág. 225-232, 2019.

NATAL, Delsio. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

NETO, JOSE TIAGO DAS NEVES. Óleo bruto de *Pterodon Emarginatus* Vogel (sucupira) como manipulador da fermentação ruminal em sistema de cultura contínua de duplo fluxo. 2015.

NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. 13 Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, p. 588.

OLIVEIRA, A. C. S. D. et al. Chemical composition, in vitro larvicidal and antileishmanial activities of the essential oil from *Citrus reticulata* Blanco fruit peel. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e247539, 2021.

OLIVEIRA, Anna EMFM et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel oil. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0145835, 2016.

OLIVEIRA, Leandra de Almeida Ribeiro. Avaliação in vitro das atividades antimicrobiana e anti-inflamatória de vouacapanos de *Pterodon emarginatus* Vogel (FABACEAE). 2018. 100 f., il. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)—Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

OMENA, MC De et al. Diterpenos larvicidas de *Pterodon polygalaeflorus*. **Doenças transmitidas por vetores e zoonóticas**, v. 2, pág. 216-222, 2006.

ORTIZ-ZAMORA, Lisset et al. Preparation of non-toxic nano-emulsions based on a classic and promising Brazilian plant species through a low-energy concept. **Industrial Crops and Products**, v. 158, p. 112989, 2020.

PAULA, Fernanda BA et al. Protective action of a hexane crude extract of *Pterodon emarginatus* fruits against oxidative and nitrosative stress induced by acute exercise in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, p. 1-9, 2005.

PEÑA, Lorena Carolina; PAMPHILE, João Alencar; DOS SANTOS OLIVEIRA, João Arthur Arthur. Mosquito *Aedes spp.* vetor de importantes arboviroses: do controle clássico ao biotecnológico, uma breve revisão. **Revista Valore**, v. 7, p. 7052, 2022.

PIMENTA, Antonia TA et al. Phytochemical study and evaluation of larvicidal activity of *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) against *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 501-505, 2006.

ROMANO, Camila Aline et al. Atividade inseticida do líquido da casca da noz *Anacardium humile* (Anacardiaceae) contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 3, pág. 183-194, 2018.

SANTANA, Hilamani Torres. Estudo fitoquímico de *Piper alata* TREL & YUNCK, 1950 e avaliação da atividade larvica sobre *Aedes aegypti* LINNAUS, 1762 (DIPTERA: CULICIDAE) em condições de campo simulado. 2012.

SILVA, H.H.G.; SILVA, LG.; LIRA, K.S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, 27: 53-63, 1998.

SILVA, Jonizete Garcia et al. Efeito larvica e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti* (diptera, culicidae), em criadouros artificiais. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 32, n. 1, 2003.

SILVA, Nádia Livia Amorim; MIRANDA, Francisco Alberto Alencar; DA CONCEIÇÃO, Gonçalo Mendes. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SILVEIRA, Daniella Patrícia Brandão et al. Atividade larvica sobre *Aedes aegypti* L. (culicidae) e composição química do óleo essencial de partes aéreas de *Baccharis trimera* (Less) DC. 2018.

SIMAS, Naomi Kato et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvica de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenil propanóides. **Química nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.

SIMMONS, Cameron P. et al. Dengue. **New England Journal of Medicine**, v. 15, pág. 1423-1432, 2012.

TEIXEIRA, Luiz Antônio. Da transmissão hídrica a culicidiana: a febre amarela na sociedade de medicina e cirurgia de São Paulo. **Revista brasileira de História**, v. 21, p. 217-242, 2001.

TUÑON, Anyi et al. Controle químico de artrópodes clinicamente importantes no Panamá: uma revisão sistemática da literatura de esforços históricos. **Acta Trópica**, pág. 107217, 2024.

VALLE, Denise et al. Resistência ao temefós e à deltametrina em *Aedes aegypti* do Brasil entre 1985 e 2017. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. e180544, 2019.

World Health Organization (WHO), "Genuineinter sectoral collaboration is needed to achieve better progress in vector control" 2022 a. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/11-04-2022-genuine-intersectoral-collaboration-is-needed-to-achieve-better-progress-in-vector-control>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

World Health Organization (WHO), "Launchofthe Global ArbovirusInitiative" 2022 b, Disponível:http://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://cdn.who.int/media/docs/default-source/world-health-data-platform/technical-advisory-groups/arbovirus/gla-launch-meeting-summary_webinar_31-march-2022.pdf. Acesso em: 16 fev. 2023.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.