



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ- UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS CURSO DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS-MODALIDADE LICENCIATURA

MARIA LUCIA DE SOUSA SILVA

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE LARVAS DE CAMPO
DO *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA, CULICIDAE) AO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Eucalyptus staigeriana* F. Muell**

PICOS, PIAUÍ
2018

MARIA LUCIA DE SOUSA SILVA

AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE LARVAS DE CAMPO DO *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA, CULICIDAE) AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eucalyptus staigeriana* F. Muell

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Marcia Maria Mendes Marques

PICOS, PIAUÍ
2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

S587a Silva, Maria Lucia de Sousa.
Avaliação da suscetibilidade de larvas de campo do *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA, CULICIDAE) ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. / Maria Lucia de Sousa Silva. – 2018.

44 f.

CD-ROM; il.; 4 ¾ pol.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2019.
Orientador(A): Profa. Dra. Marcia Maria Mendes Marques.

1. Controle Vetorial. 2. *Aedes aegypti*. 3. Larvicida. 4. *Eucalyptus staigeriana*. I. Título.

CDD 614.575

MARIA LUCIA DE SOUSA SILVA

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE LARVAS DE CAMPO DO *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA, CULICIDAE) AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eucalyptus staigeriana* F. Muell

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 03 - 12 - 2018

Banca Examinadora:

Marcia Maria Mendes Marques
Prof.ª Dr.ª Marcia Maria Mendes Marques

Orientadora

João Marcelo de Castro e Sousa
Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa

Examinador

Lucas Emanuel Sousa e Silva
Prof. Lucas Emanuel Sousa e Silva

Examinador

Abelina Lucia de Sousa Silva

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a minha orientadora Prof. Dra. Marcia Maria Mendes Marques pela a oportunidade, orientações, dedicação, paciência, para que esse trabalho fosse realizado. Admiração, respeito e um carinho enorme pela V.S^a.

A minha família Abelina e Francisco, meus pais, Ronalice e Ronivaldo, irmãos, Maria Jose, cunhada, pelo o apoio, credibilidade, amor, compreensão, incentivos, e alegrias. Obrigada por estarem sempre do meu lado, por torcerem por mim. Vocês são a minha fortaleza, fonte de coragem para os meus dias. Amo incondicionalmente.

E a extensão da entidade família, para agradecer ao meu esposo João Paulo de Alencar Rodrigues pelo o apoio nessa trajetória, a compreensão, a credibilidade depositada em mim na realização dessa etapa dos nossos sonhos.

A os integrante do grupo LAPEDONE (Mosquiteiros) levarei vocês no meu coração, obrigada pelo o apoio sempre que precisei, a dedicação. A minha vida acadêmica ganhou mais sentido a partir do momento que passei a integrar o grupo. Obrigada “mosquiteiros” vocês são sensacionais.

Um agradecimento de modo especial as meninas Antônia Angela e Abilde Lacerda e ao aluno Lucas Emanuel por estarem sempre aptas a contribuir com a realização desse trabalho, e pelo os momentos de alegria em meio ao stress e a correria que é a vida acadêmica.

As minhas meninas que convivo diariamente Jorgiane, Heldia, Leyd e Camila, só tenho a agradecer por Deus colocar pessoas tão especiais no meu caminho, por vocês estarem aqui como uma família, distribuindo carinho, atenção e força para enfrentar as batalhas diárias. Camila de Moura Rocha obrigada por estar disponível para ouvir e conversar comigo nos momentos de ápice da loucura, pela as palavras de apoio, e a energia e alegria que você tem, es uma pessoa incrível.

De modo incondicional e sobrenaturalmente ao ser superior que coordena todos os fatores dessa realização Deus, o supremo que na imensidão de tudo e na sua perfeição proporcionou-me saúde, força, paciência, empenho nos momentos difíceis, e permissões e direcionamento nessa caminhada.

RESUMO

Os vetores de arbovirose como o *Aedes aegypti*, enquadrado como a espécie de maior importância dentro das infecções virais (arthropod-borne vírus). A busca por alternativas para o manejo integrado visam nos vegetais novas substâncias que possam atuar na tentativa de minimizar os impactos causados por esse mosquito. O presente trabalho visou analisar o potencial larvicida do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a larvas do mosquito *Ae. aegypti*. Utilizando a análise dos principais componentes químicos desse óleo por Cromatografia Gás-líquida Acoplada a Espectrômetro de Massas (CG/EM), a avaliação toxicológica dessa metodologia como óleos essenciais, seguida da realização de bioensaios frente as larvas de *Ae aegypti* em diferentes concentrações (500, 400, 300, 200, 100, 50, 25 ppm). A leitura dos resultados foi feita nos tempos de (24, 48, 72 h). A cromatografia demonstrou o D- limoneno, Geraniol, e 2,6-Octadienal, 3,7-dimetil- (E) como constituintes majoritários para o óleo *E. staigeriana*. Os bioensaios para *Artemia salina* alcançou uma capacidade letal (<100 ppm) (CL₅₀ 21,29) e (CL₉₀ 65,44) indicativo para produtos naturais bioativos. Bioensaios com larvas padrão demonstraram efetividade do O.E, nos tempos (24 h) para as concentrações (200, 100, 50 ppm) obteve-se um percentual de mortalidade (100%; 967% e 667%) respectivamente. A atividade frente a larva de campo para concentrações (500, 400 e 300 ppm) alcançou (100%) de mortalidade para todas as respectivas concentrações no tempo de monitoramento (24 h). Para as demais concentrações (200, 100, 50 ppm) e tempo de (24 h) a mortalidade foi baixa (16,7 %) para a concentração (200 ppm), e com o aumento do tempo para 48h o percentual de mortalidade aumentou (40, 16,7, 0 %) e 72h o percentual obtido foram (100, 50, 0 %) para as concentrações (200,100,50 ppm) respectivamente. Os resultados da (CL₅₀ <100 ppm) para O.E *E. staigeriana* para larvas padrão (CL₅₀ >100 ppm) para larva de campo. Resultando de um efeito bioativo para o óleo essencial de *E. staigeriana*. Indicam uma correlação entre variáveis concentração *versus* mortalidade *versus* tempo e que esse efeito de mortalidade poderá está associada como a presença dos compostos majoritários, desse o D-limoneno (20,36%), foi o mais expressivo para o O.E de *E. staigeriana*. Esses resultados podem contribuir como uma fonte alternativa para o desenvolvimento de produtos que venham a ser utilizadas no controle a espécie de mosquito *Ae. aegypti*.

Palavras chaves: Controle etorial, *Aedes aegypti*, larvicida, *Eucalyptus staigeriana*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Ciclo de desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*..... 15
- Figura 2:** Representação morfológica do mosquito *Aedes aegypti* A) Fêmea do mosquito *Ae. aegypti* B) Macho do mosquito *Ae. aegypti*. 16
- Figura 3:** Preparo do bioensaio utilizando larvas de *Aedes aegypti*. A: Larva do mosquito *Aedes aegypti*. B: bioensaio utilizando O.E de *E. staigeriana*. 23
- Figura 4:** Bioensaio com o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a larvas de *Aedes aegypti*..... 24
- Figura 5:** Cromatografia de gás-líquido acoplada a espectrometria de massa do óleo essencial de folhas do *E. staigeriana* 25
- Figura 6:** Reta de regressão obtida pela média de náuplios de *Artemia salina* mortas frente as concentrações do óleo essencial de *Eucalypto staigeriana* após 24 h..... 29
- Figura 7:** Percentagem de mortalidade de larvas Rockefeller (larvas de *Ae. Aegypti*) submetidos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em diferentes períodos de tempo..... 31
- Figura 8:**Reta de regressão obtida do número de larvas padrão de *Aedes aegypti* e as concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* após 24 horas. 32
- Figura 9:** Percentagem de larvas mortas de *Ae. aegypti* submetidos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em diferentes períodos de tempo 33
- Figura 10:** Percentual de mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* após diferentes tempos de exposição ao o óleo essencial de *E. staigeriana*. 33
- Figura 11:**Reta de regressão obtida do número de larvas de *Aedes aegypti* de campo mortas e das concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* após 72 h. 34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Constituintes químicos voláteis identificados no óleo essencial das folhas de *Eucalyptus staigeriana* 26
- Tabela 2:** Percentual de mortalidade de náuplios de *Artemia salina* frente ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*..... 29
- Tabela 3:** Concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a *Artemia salina*. 30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG/EC - Cromatografia Gás-líquida Acoplada a Espectrômetro de Massas

CL - Capacidade Letal

CL₅₀ - Concentração que mata 50% das larvas

LACES - Laboratório de Análises Cromatográficas e Espectroscópicas

O.E Óleo essencial

Ppm partes por milhão (mg/ L)

TAS Toxicidade *Artemia salina*

TR Tempo de retenção

UECE Universidade Estadual do Ceará

UFPI Universidade Federal do Piauí

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 Mosquito <i>Aedes aegypti</i> (LINNAEUS,1762).....	14
2.2 Métodos de controle aos insetos.....	16
2.3 Resistência a inseticidas	18
2.4 Uso de plantas como inseticida	18
2.5 Óleos essenciais.....	19
2.6 Considerações botânicas para a espécie <i>Eucalyptus staigeriana</i>	20
3. METODOLOGIA.....	22
3.1 Material vegetal.....	22
3.2 Análise química do óleo essencial.....	22
3.3 Testes de toxicidade	22
3.3.1 Bioensaios de <i>Artemia salina</i> (Leach).....	23
3.4 Bioensaios larvicidas	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
4.1 Caracterização química do óleo essencial	25
4.2 Toxicidade do óleo frente <i>Artemia salina</i> (TAS).....	28
4.3 Toxicidade frente larvas de <i>Aedes aegypti</i>	30
4.3.1 <i>Aedes aegypti</i> cepa padrão.....	31
4.3.2 <i>Aedes aegypti</i> de campo.....	33
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

A existência de uma correlação entre doenças e insetos transmissores é uma temática ampla e que representa um dos maiores desafios para a humanidade (MORETTO, L D.; RABINOVITCH, L, 2016). Visto que os mosquitos atuam como vetores de doenças importantes, como Malária, Dengue, Zika Vírus, Febre Amarela, Chikungunya, Febre de Mayaro e Filariose (COELHO et al., 2017). Doenças essas infecciosas associadas a vetores e transmitidas ao homem constituindo um grupo de doenças com grande importância clínica, epidemiológica e laboratorial, tendo como principal vetor, os mosquitos. (NUNCIO et al., 2014)

Os mosquitos do gênero *Aedes* são responsáveis pela transmissão de diferentes arboviroses, doenças com um grande potencial de morbidade e mortalidade que causam impactos grave na saúde pública (ACHEE et al., 2015). Dentro do gênero *Aedes* a espécie *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) é a espécie apontado como o vetor de uma das mais importantes infecções virais (arthropod-borne vírus) que é a Dengue. Essa doença é transmitida pela a picada do mosquito *Ae. aegypti* que desenvolveu em sua trajetória evolutiva um comportamento estritamente sinantrópico e antropofílico, sendo reconhecido entre os Culicídeos como a espécie mais associadas ao homem (NATAL, 2002).

Os casos de doenças associadas aos vetores mosquito do gênero *Aedes* tem aumentado, surgindo além da Dengue, Febre Amarela urbana, chikungunya e o zika, doenças que se tornam ao longo dos anos um grande problema de saúde pública (VASCONCELOS, , 2002; SILVA et.al., 2018, FREITA et al., 2016).

O Brasil por ser um país de clima tropical, quente e úmido apresenta condições ideais para proliferação do mosquito. Ademais condições de saneamento do país é um dos fatores agravantes neste processo, com o acúmulo de recipientes, em sua maioria artificiais, que favorecem a procriação do *Ae. aegypti*. (SILVA, MARIANO, ; SCOPAL, 2008)

Os inseticidas são empregados á muito tempo para o controle vetorial de insetos, especialmente quando um surto da doença transmitida por vetores ocorre, e nos últimos anos com o surto em diversas regiões do país dos casos de dengue vários inseticidas têm sido utilizados para reduzir a população desse vetor (THONGWAT et al., 2017).

Um dos métodos do controle de mosquito é através do uso de larvicidas, e inseticidas comumente inseticidas sintéticos, nomeadamente organofosforados, organoclorados e

carbamatos. O uso extensivo e disseminado desses inseticidas sintéticos causam preocupação sobre a segurança e os impactos toxicológicos para o meio ambiente, seres humanos e outros organismos (YU et al., 2015).

O aparecimento de resistência dos mosquitos aos inseticidas comerciais prejudica os programas regulares de controle ao vetor e, conseqüentemente, proporciona o aumento do número de casos da doença, com isso surge a busca por novos inseticidas/ larvicida (SANTANA et al., 2015).

Plantas são utilizadas desde da antiguidade para inúmeras atividades biológicas e/ou farmacológicas, com expressivo embasamento nas observações do saber popular frente a sua ação; desse modo, uma vez que os inseticidas convencionais têm sucesso limitado frente aos avanço epidemiológico da dengue, é cada vez mais desafiador buscar formas para controlar o mosquito *Ae. aegypti*, as plantas surgem como uma fonte alternativa de agente larvicida e ou inseticida (NARCISO et al., 2014).

Dessa forma, sendo o mosquito *Ae. aegypti* um importante vetor de doenças, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial do óleo essencial de *E. estaiageriana* frente a larvas do mosquito *Ae. aegypti*, como uma estratégia alternativa para o controle do vetor. Considerando que óleos essenciais são composto orgânicos com um menor potencial tóxico para mamíferos, tornaria a sua utilização como larvicida/inseticida eficiente para o manejo integrado, na tentativa de minimizar a presença do vetor.

XX

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mosquito *Aedes aegypti* (LINNAEUS,1762)

O *Ae. aegypti*, (Linnaeus, 1762) é uma espécie de mosquito pertencente ao filo Arthropoda, pés articulados, classe Hexapoda por apresentarem três pares de perna, ordem Diptera, com um par de asas anterior funcional e um par posterior transformado em halteres, família Culicidae, subfamília Culicinae, tribo Aedini, gênero *Aedes* e subgênero *Stegomyia* (FORATTINE, 2002; FUNASA, 2001).

Além do *Ae. Aegypti* existe outro mosquito vetor desse gênero, o *Aedes albopictus* (Skuse, 1894). Essas duas espécies de mosquitos são descritos com adaptabilidade para a transmitir, além da dengue de outras arboviroses, sendo o *Ae. albopictus*, uma espécie primariamente habitante de borda de florestas que se adaptou prontamente aos habitats e recipientes produzidos por humanos (MOORE C.G et.al., 1988). O *Ae. agypti*, apresenta características morfológicas adaptativas que podem ter inferido na sua predominância em meio urbano antropofílico, vantagens como a coloração "viva", manchas brancas pelo o corpo e habito diurno teriam levado a sua estreita relação com o homem no meio urbano (NATAL,2002).

Os dípteros se desenvolvem através de metamorfose completa (holometabolía), compreendendo um ciclo de vida que envolve quatro fases: ovo, larva (4 estádios larvários), pupa e adultos (Figura 1). A larva passa por quatro estádios (L1, L2, L3 e L4). A fase larvária corresponde ao período de alimentação e de crescimento. Após o quarto estádio, a larva passa à fase pupal, durante a qual não se alimenta e sofre a metamorfose para a fase adulta (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINE, 2002).

O *Ae. agypti* enquadra -se entre as espécies do grupo Culicídeos que se adaptaram a depositar os seus ovos nas paredes de pequenos artefatos que acumulam água, esse ovo apresenta-se revestido por uma estrutura similar a um invólucro inicialmente elástico e em seguida torna-se rígido proporcionando suporte e proteção mecânica ao embrião nele contido e apresentando especial importância para tornarem-se resistentes a dessecação (POMBO, 2016). Os ovos do *Ae. aegypti* medem, aproximadamente, 1mm de comprimento e formato alongado e fusiforme (FORATTINE, 1996).

Figura 1: Ciclo de desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*



Fonte: Própria autora, 2018.

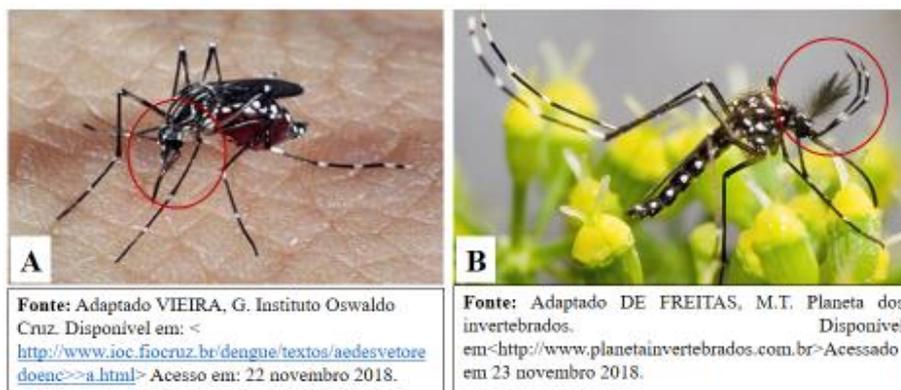
A larva do *Ae. aegypti* apresenta o corpo segmentado em cabeça, tórax e abdômen, sendo esse abdômen dividido em oito segmentos. O segmento posterior e anal do abdômen tem quatro brânquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão para a respiração da larva, morfologicamente o sifão é curto, grosso e mais escuro que o corpo da larva (FORATTINE, 2002). O sifão é utilizado pela larva para respirar, de modo que essa vem à superfície onde fica em posição quase vertical na película de água, e a depender das condições ambientais, existe um intervalo de tempo para a chegando ao estágio pupal, onde ocorrerá a metamorfose do estágio larval para o adulto (FUNASA, 2001).

O *Ae. aegypti* adulto é escuro, com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais e um desenho em forma de lira no mesonoto, o macho se distingue morfologicamente da fêmea por possuir antenas plumosas e palpos mais longos como demonstrado na (Figura 2) (FUNASA, 2001). As fêmeas são capazes de realizar inúmeras posturas no decorrer de sua vida, copulam apenas uma vez com o macho, conservando os espermatozoides em sua espermateca, órgão utilizado para o armazenamento de esperma a partir da inseminação até antes que os ovos estejam fertilizados (ARAÚJO, H.R.C. 2011).

Para a conclusão do ciclo reprodutivo as fêmeas do mosquito necessitam da atividade de repasto sanguíneo, tornando essa espécie de mosquito de hábitos hematófagos para as fêmeas, devido a necessidade de proteínas que estão presentes no sangue para o desenvolvimento e maturação dos ovos desses mosquitos. Para a escolha da fonte sanguínea para sua alimentação, o mosquito *Ae. aegypti* é dotada de certo ecletismo, mais o homem é

sua principal vítima, com picos de maior atividade geralmente ao amanhecer e pouco antes do crepúsculo vespertino (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINE, 2002).

Figura 2: Representação morfológica do mosquito *Aedes aegypti* A) Fêmea do mosquito *Ae. aegypti* B) Macho do mosquito *Ae. aegypti*.



O *Ae. aegypti* tem uma ampla disseminação pelo mundo e permanece onde as alterações antrópica proporcionam sua disseminação, atualmente ele é considerado um mosquito cosmopolita, que vem cada vez mais se adaptado ao ambiente urbano sempre ligado ao peridomicílio e ao domicílio humano, e durante a estação chuvosa a população do mosquito alcançam níveis elevados de proliferação e de importância para fins de transmissão de patógenos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Modo de comportamento e a biologia do vetor são fatores que podem ser associados ao surtos de dengue, em regiões como o Brasil, característica importante para os mosquitos é a grande diferença entre os estágios imaturo (aquático) e adulto (terrestre). Isso permite que vários fatores físicos como temperatura, humidade relativa, pluviosidade regulem o crescimento dessa população e fatores biológico como por exemplo, concorrência e predação, tenham efeitos importantes sobre esses estágios imaturos e também influenciem a capacidade de transmitir agentes patogénicos na idade adulta (REY J.R, LOUNIBOS,P. 2015).

2.2 Métodos de controle aos insetos

O controle vetorial e a vigilância epidemiológica são os primeiros passos para prevenir e reduzir o número e a transmissão de casos de arboviroses, de modo que esses métodos

visam o afastamento entre a pessoa e o vetor, e a determinação da presença e abundância desse vetor (SILVA et. al., 1997)

Os métodos de controle vetorial podem ser de três tipos físicos, biológicos e químicos e dentre eles os físicos ou biológicos que incluem a gestão estratégica de sistemas acumuladores de água que possam servir de criadouros naturais para os mosquitos, recorrendo, por exemplo, a medidas de saneamento básico, aterramento de coleções líquidas, obras de drenagem de pântanos ou terrenos alagados, cultivo de solos abandonados, controle de descargas de águas residuais e de armazenamento temporários são bons indícios para reduzir a população vetorial (NUNCIO, 2014).

O método de controle físico visa a eliminação do agente causador do dengue tendo como objetivo destruir ou destinar adequadamente reservatórios naturais ou artificiais de água que possam servir de depósito para ovos e/ ou larvas do *Ae. aegypti* (ZARA et al., 2016).

O controle biológico, utiliza tecnologia de transgenia, manipulando o *Ae. aegypti*, visando o controle da população desse inseto, bem como o controle é feito com larvicida a base de *Bacillus thuringiensis* Sorovar Israelenses que constituem a forma mais evoluída de impedir a proliferação de insetos (MORETTO, L.D.; RABINOVITCH, L, 2016).

O controle químico usa inseticidas de origem orgânica ou inorgânica, é uma das metodologias mais adotadas como parte do manejo sustentável e integrado para o controle de vetores em Saúde Pública (BRAGA; VALLE, 2017).

Dentre essas diversas práticas de manejo para o controle de insetos uma das primeiras a ser utilizada é a de controle físico, mas com os avanços nos estudos em torno de doenças que são causadas por artrópodes, é constante a busca por métodos como o desenvolvimento de vacinas ou medicamentos, o que nem sempre é possível, tornando a utilização de inseticidas químicos, por esses permanecerem ativos por longos períodos no ambiente, um método de controle de vetores amplamente utilizado na saúde pública (BRAGA; VALLE, 2007).

A junção de métodos de controle para os mosquitos objetivam em alcançar uma eficácia na redução vetorial, pois formas graves de doenças virais causadas pelos os mosquitos do gênero *Aedes* vem apresentando um grande potencial epidemiológico, não havendo estratégia disponível para o controle permanente aos quatro sorotipos da doença, nem controle sobre as variações genéticas do mosquito, havendo uma crescente expansão no números de casos da doença, correspondente com a capacidade do mosquito em apresentar-se em uma ampla distribuição geográfica (GUBLER, 2014).

Na ausência de vacina de eficácia a nível mundial e tratamentos específicos, são importantes a manutenção e a integração de uma vigilância entomológica e epidemiológica contínua, a fim de direcionar métodos de controle e prevenção contra essas arboviroses no País (CAMARA, T.N.L, 2016).

2.3 Resistência a inseticidas

A resistência é uma característica genética que se insere em uma população, onde os insetos tem a capacidade de tolerar concentrações inicialmente letais, promovendo uma redução gradual na eficácia do inseticida, até sua completa ineficiência (DIAS, 2013). Pode ser influenciada por fatores genéticos e ou biológicos inerente a cada população, ou a fatores operacionais, relacionados ao uso dos produtos químicos. Contudo, é fundamental a compreensão dos fatores envolvidos na evolução da resistência, para que se estabeleçam programas de manejo da resistência e de controle das populações do vetor. Dessa forma estudos que demonstram a resistência do mosquito *Aedes* em diferentes regiões do território brasileiro são desenvolvidos (BEZERRA et al., 2007).

O desenvolvimento de resistência do mosquito aos inseticidas químicos, e a possibilidade da suscetibilidade do mosquito á inseticidas naturais, advindo de fontes vegetais, é tido como um meio de diminuir a dependência aos químicos, bem como seria mais seguro ecologicamente para a população pois a sua utilização traria a redução populacional do mosquito através do controle da forma imatura do inseto no seu estágio larval, que não apresentam restrições na sua cadeia alimentar, seria uma forma viável de combate vetorial (CARBONARO et al., 2015).

2.4 Uso de plantas como inseticida

As plantas são organismos vivos que apresentam metabolismos primários e secundários que atuam tanto para sua nutrição como para sua defesa, respectivamente. Dentro dos metabolitos produzidos pelas plantas estão os óleos essenciais, que são constituídos por uma mistura complexa de diversas classes de substâncias voláteis dentre elas os fenilpropanóides, mono e sesquiterpenos, pertencentes ao metabolismo secundários das plantas (MORAIS , 2009).

As vias de produção para os terpenos estão presentes em todos os organismos vivos, principalmente, na maioria dos eucarionte e em organismos fotossintetizantes, que a partir do seu metabolismo secundário sintetizam ácidos mono- sesqui- e diterpenos que apresentam se com um grande potencial inseticida (ROMMINGER, S. 2013)

Esses metabolitos secundários são compostos conhecidos por desempenharem um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes, contra ataques de invasores, e também representam uma fonte importante de substâncias farmacologicamente ativas (FUMAGALI et al. 2008).

Os inseticidas naturais têm uma variedade de modos de ação, eles podem ser inibidores de síntese de quitina, atuar na capacidade de desenvolvimentos normal do organismo, alterar a capacidade de crescimento e ou causar alterações celulares (MALECK, 2014).

Os estudos dos metabolitos secundários de plantas apresenta se como uma importante atividade, tendo em vista a demanda por uma forma menos agressiva e eficaz no controle ao mosquito *Ae. Aegypti*. O vetor vem apresentando resistências aos inseticidas químicos organofosforados e piretróides, tradicionalmente utilizados durante um longo tempo, a possibilidade da ação dos óleos essenciais como uma fonte na busca por novos compostos biologicamente ativos que controle ou minimize o vetor transmissor da dengue vem sendo estudado na busca de diminuir a dependência aos químicos (ACIOLE, 2009).

2.5 Óleos essenciais

Os óleos essenciais pode ser obtidos das diversas partes das plantas, folhas, frutos, semente, caule ou raiz, por técnicas de destilação ou arraste a vapor de água, e apresentar uma grande diversidade na sua composição química tais como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, entre outros e como características principais dessa mistura de compostos esses são substancias voláteis, lipofílicos e como acompanha o seu nome, os óleos essenciais apresentam aromas ou odores intensos e são essas essências que na planta são responsáveis por uma diversidade de atividade biológicas (JESUS, ELLENSOHN, BARIN, 2007).

A natureza lipofílica dos óleos essenciais e de seus componentes interfere na função bioquímica, fisiológica e comportamental dos insetos (NISHIMURA, 2001). Por exemplo, perturba o equilíbrio endocrinológico de insetos (RATTAN, 2010) e bloqueia a síntese de

acetilcolinesterase, enzima responsável pela coordenação geral no sistema neuromuscular do inseto. (FOURNIER; MUTERO, 1994).

Esses produtos naturais obtidos de plantas são alternativas importantes para o uso como larvicida, pois são originários de vertentes renováveis, biodegradáveis, menos tóxicos, e apresentam baixo custo. E como no meio ambiente os mesmos são produzidos pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico, sendo assim fonte natural de substâncias inseticidas e antimicrobianas, e como as plantas são organismos que coevoluem com insetos e outros microrganismos, pode se haver compostos que afetem diretamente a performance do inseto *Ae. aegypti* (SIMAS et al. 2004).

2.6 Considerações botânicas para a espécie *Eucalyptus staigeriana*

Espécies do gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae, que está inserida dentro da Ordem Myrtales de evolução monofilética. Abrange árvores ou arbustos com casca esfoliante, pelos simples, unicelulares ou bicelulares, folhas opostas ou alternas e espiraladas, com glândulas pelúcidas esparsas, isto é com cavidades secretoras esféricas contendo terpinóides e/ou outros compostos resinosos ou aromáticos, estípulas diminutas ou ausentes (JUDD, W.S. et. al., 2009). A distribuição das espécies da família Myrtaceae ocorre de modo pantropical, em grande diversidade de habitats, mais concentrando-se como os principais centros de dispersão das espécies, as regiões neotropicais e a Austrália (GAIAD; CARVALHO,)

Sendo a família Myrtaceae representante de uma das maiores famílias da flora brasileira, com 144 gêneros e aproximadamente 4.630 espécies, muitas espécies possuem propriedades medicinais e apresentam aproveitamento alimentar, sendo os representantes dessa família divididos em duas subfamílias a Myrtoideae com bagas e folhas consistentemente opostas e Liptospermatoideae com capsulas ou nozes de folhas alternas ou opostas, na qual o gênero *Eucalyptus* se encontra (JUDD, W.S. et. al., 2009).

O gênero *Eucalyptus*, compreende mais de 700 espécies, sendo algumas delas fontes importantes de matéria-prima para a indústria madeireira e de celulose, bem como de óleos essenciais de elevado valor para a indústria farmacêutica e de perfumaria (FIGUEREDO, A. C. et.al., 2003).

Os óleos essenciais isolados de *Eucalyptus* possuem aromas característicos, de acordo com a espécie, e em função da sua composição e utilização final, estes óleos classificam-se

em três tipos: medicinal, de perfumaria e industrial. Dentre estes, o mais importante em termos de mercado é o medicinal, caracterizado pelo elevado teor em 1,8-cineole (também designado eucaliptol) (FIGUEIREDO, A.C. et. al., 2013). Investigações têm demonstrado que o óleo volátil de determinadas espécies do gênero *Eucalyptus* apresenta atividade antimicrobiana e/ou antifúngica (BOSCARDIN, P. M. D., 2009).

O *Eucalyptus staigeriana* F. Muell é uma das principais espécies utilizadas no Brasil para extração de óleo essencial, é uma planta de origem Australiana e foi na China que iniciou a utilização do óleo essencial, bastante usado no tratamento estético da pele como em casos de queimaduras, feridas, bolhas, mordidas de insetos, piolhos e infecções cutâneas (MACHADO, 2014).

Em estudos realizados por Gusmão et. al. (2013) utilizando óleos essenciais *Eucalyptus citriodora* Hook, *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Foeniculum vulgare* Mill; foi demonstrado a toxicidade de contato fumigante e o efeito repelente dos óleos no controle do gorgulho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) que é considerado a mais importante praga do feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp (GUSMÃO, N. M. S. et. al., 2013).

Óleos essenciais de *Eucalyptus dunnii* (Maiden), *Eucalyptus gunnii* (Gancho), *Eucalyptus tereticornis* (Smith), *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn) e *Eucalyptus saligna* (Smith) obtiveram concentrações letais CL50 de 25,2, 21,1, 22,1, 26,8 e 22,2 ppm respectivamente, apresentando resultados efetivos contra larvas de terceiro ou quarto estágio de *Ae. aegypti* (LUCIO, A. et.al., 2008).

3. METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

O óleo essencial das folhas de *Eucalyptus staigeriana* L. Mull, foi extraído pelo processo de hidrodestilação por arraste de vapor em aparelho doseador do tipo Clevenger. Foi cedido pela professora Dra. Selene Maia de Moraes da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

3.2 Análise química do óleo essencial

A análise química realizada por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC/EM) foi feito no Laboratório de Análises Cromatográficas e Espectroscópicas e a identificação dos constituintes voláteis foi realizado com base em pesquisas em espectroteca de padrões provida de espectros de massas de substâncias conhecidas armazenadas no sistema, e a quantificação dos constituintes identificados foi realizado utilizando-se Cromatógrafo Gás Líquido acoplado a detector FID (Flame Ionization Detction) que resulta da quantificação em percentuais relativos e estão condizentes com as alturas dos picos observados nos cromatogramas obtidos no experimentos CG/EM.

3.3 Testes de toxicidade

Os testes de toxicidade e bioensaios larvicidas foram realizados no laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI) *campus* Senador Helvidio Nunes de Barros (CSHNB). As cepas Rockfeller foram cedidas pelo o professor Victor Emanuel da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB/Brasil). As larvas de campo foram advindas das coletas em pontos aleatórios dos bairros da cidade de Picos-PI/Brasil, cedidas pela professora Ana Carolina Landim Pacheco (UFPI), todas devidamente identificadas segundo a bibliografia de FORATTINE, 2002.

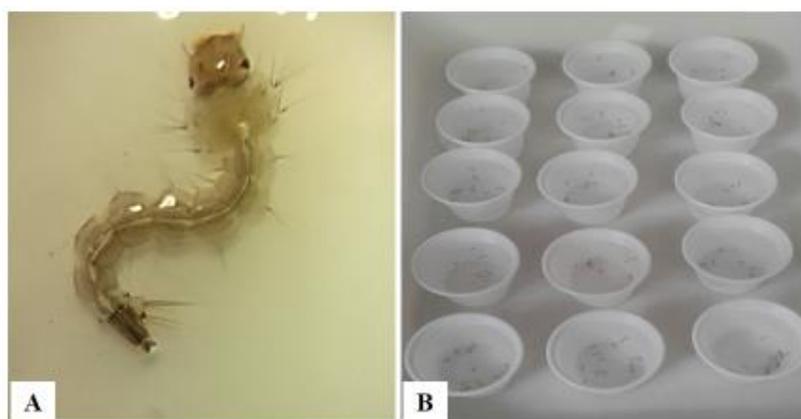
3.3.1 Bioensaios de *Artemia salina* (Leach)

O teste de toxicidade frente à *Artemia salina* foi realizado segundo os protocolos propostos por Meyer et al. (1982) e Paredes et al. (2016). Ovos de *A. salina* foram incubados por 24 h em solução de sal marinho sintético (30 g. L^{-1}) dentro de um recipiente de vidro equipado com um compartimento escuro e outro com a recepção de luz artificial. A água foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação e aeração constante, por um período de 48 horas até eclosão das larvas. Primeiro, foi preparada uma solução mãe com óleo essencial de *E. staigeriana* na concentração de 1000 ppm, dissolvendo-se 100 mg do óleo em 5 mL de DMSO, completando o volume com água (100 mL). A partir dela foram obtidas as diversas concentrações por meio de diluições em série (1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, $3,91 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Com o auxílio de uma pipeta Pasteur as larvas de microcrustáceos ($n=10$) foram transferidas para tubos de ensaio contendo 3 mL da solução. O controle foi feito com água salgada. Todos os teste foram realizados em triplicata e o número de larvas mortas foram contadas após 24 horas. XXX

3.4 Bioensaio larvicida

Para verificar o potencial larvicida do óleo de *E. staigeriana* foi realizado bioensaio com larvas advindas de coletas de campo e cepas padrão.

Figura 3: Preparo do bioensaio utilizando larvas de *Aedes aegypti*. A: Larva do mosquito *Aedes aegypti*. B: bioensaio utilizando O.E de *E. staigeriana*.



Larvas de cepa Rockefeller foram utilizadas como referência de suscetibilidade. Para eclosão dos ovos, as paletas com ovos eram mantidas em bandejas plásticas com 600 ml de água potável e alimentadas com ração de tartaruga até atingir o terceiro ou início quarto estágio larval. De forma semelhante as larvas advindas do campo eram contadas, identificadas quanto a espécie *Ae. Aegypti*, acondicionadas em bandejas e alimentadas até atingirem o estágio larval desejado.

Uma “solução-mãe” foi preparada dissolvendo-se o óleo essencial (500 mg) em 5% de dimetilsulfóxido (DMSO) para que ocorresse a solubilização da mistura, completando o volume com água. A partir dessa solução foram obtidas as diversas concentrações através de diluições. Foram utilizadas concentrações de 25, 50, 100, 200, 300, 400, e 500 ppm do óleo essencial de *E. staigeriana* para avaliação da atividade larvicida e para cada concentração foram utilizadas 10 larvas. Foi realizado um controle negativo com DMSO e água.

Figura 4: Bioensaio com o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a larvas de *Aedes aegypti*



Foi realizado um grupo controle positivo (Sumilarv®) e um grupo controle negativo (água e dimetilsulfóxido DMSO), Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A leitura das larvas mortas foi realizada após 24, 48 e 72 horas de exposição ao óleo essencial.

Os dados da mortalidade obtidos nos bioensaios foram utilizados para calcular a média das amostras e o percentual de mortalidade, para que a partir desses dados possa se realizar regressão linear simples para obtenção da reta de regressão bem como o coeficiente de regressão e a determinação da Concentração Letal de 50% (CL₅₀) e Concentração Letal de 90% (CL₉₀).

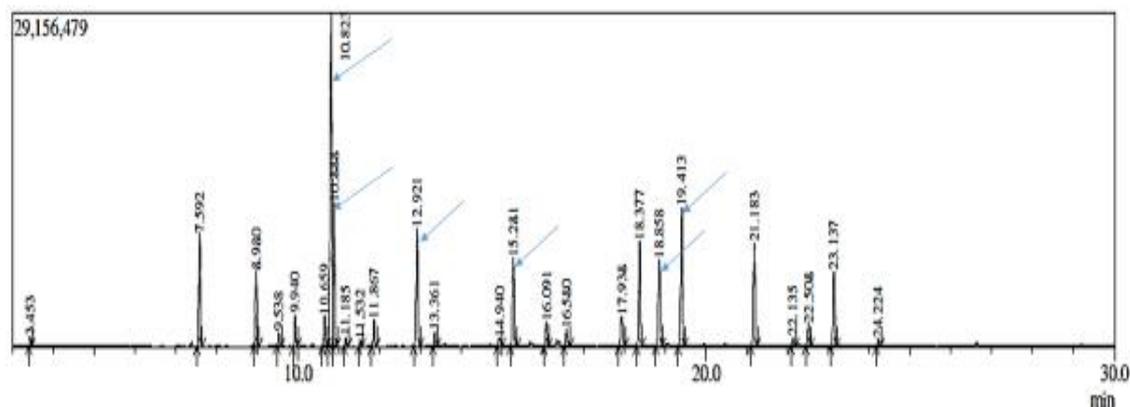
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização química do óleo essencial

Quimicamente, os óleos essenciais são misturas homogêneas formadas por uma quantidade variada de compostos orgânicos e entram no contexto atual como potencial larvicida por advir de fontes naturais e são caracterizados por uma diversidade de compostos químicos tais como cineol, citronelal, feladreno, piperitona, limoneno, linalol e eugenol. (KOKESTSU, M. GONCALVES, S.L. 1991).

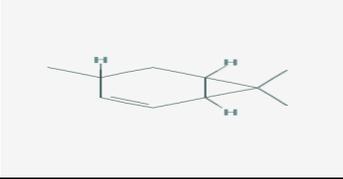
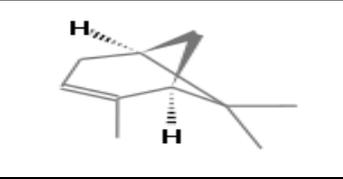
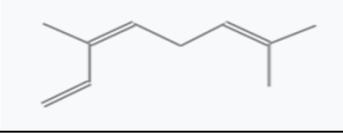
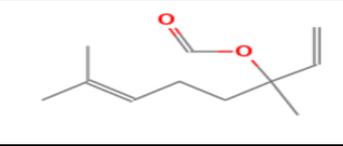
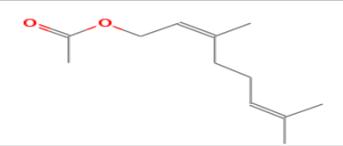
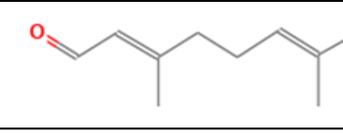
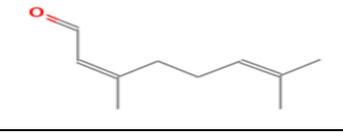
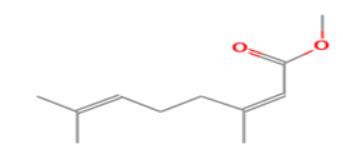
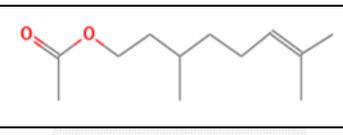
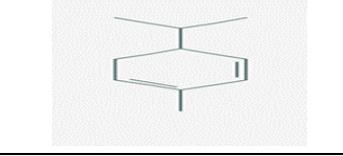
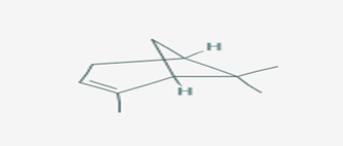
A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial (OE) de *Eucalyptus staigeriana* foi realizada utilizando CG/EM, obtendo-se um cromatograma com picos de ondas que caracterizam os constituintes presentes no óleos essencial dessa planta (Figura 5).

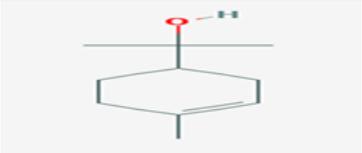
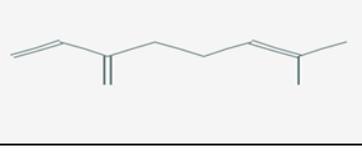
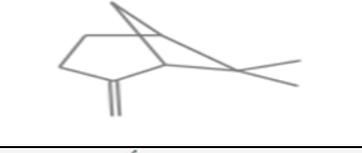
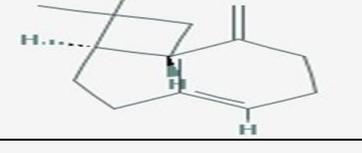
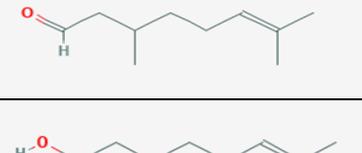
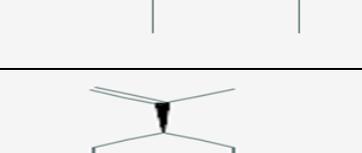
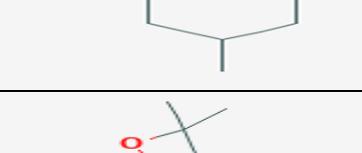
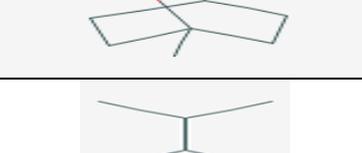
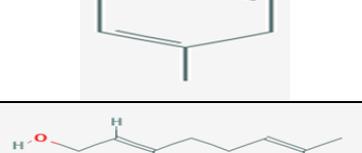
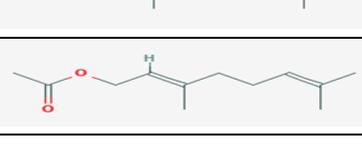
Figura 5: Cromatografia de gás-líquido acoplada a espectrometria de massa do óleo essencial de folhas do *E. staigeriana*

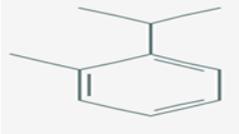
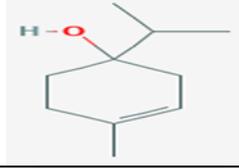
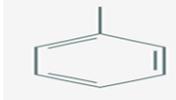


Vinte e seis constituintes foram obtidos pela análise de CG/EM dos compostos voláteis que constituem o OE estando esse referenciados pelos picos do cromatograma, como demonstrados na (Figura 5). Isso indica que os compostos majoritários desse óleo essencial são D- limoneno (20.36%), Eucaliptol (8.8%), (+)4- Carene (7.23%), Geraniol (5.26%), Citronelal (5.43%) e 2,6-Octadienal, 3,7-dimetil- (E) (8.43%), como observado no cromatograma, as setas em azul apresentam picos maiores obtendo se um tempo de retenção maior no momento da análise, o que indica que o seu percentual era majoritários em relação a outro constituintes presentes no óleo essencial.

Tabela 1: Constituintes químicos voláteis identificados no óleo essencial das folhas de *Eucalyptus staigeriana*

Constituinte	TR	%	Formula Estrutural
(+)-4-Carene	12.92	7.23	
(1R)2,6,6-Trimetilbicyclo(3,1,1)hept-2-ene	7.59	6.91	
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimetil-(Z)-	11.53	0.36	
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	13.36	0.86	
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, acetate, (Z)	22.51	1.42	
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil- (E)-	19.41	8.43	
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-(Z)-	18.37	6.40	
2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimetil-, metil ester	21.18	6.30	
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil- acetate	22.13	0.52	
α -Phellandrene	16.58	1.9	
α -Pinene	11.18	0.49	

α -Terpineol	16.58	0.76	
Beta.-Myrcene	9.53	0.76	
Bicyclo[3.1.1]heptane, dimetil-2-metilene	6,6- 8.90	4.63	
Cariofileno	24.22	0.39	
Citronelal	15.28	5.43	
Citronelol	17.93	1.84	
D-limoneno	10.82	20.36	
Isopulegol	14.94	0.53	
Eucaliptol	10.88	8.8	
Gama.-Terpineno	11.86	1.68	
Geraniol	18.85	5.26	
Geranil acetato	23.13	4.45	

o-Cymeno	10.69	1.86	
Terpinen-4-ol	16.09	1.02	
Tolueno	3.45	0.58	

TR- Tempo de Retenção

Lúcio et al. (2008) mostraram a atividade inseticida de óleos essenciais de 12 espécies de plantas do gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae) que apresentaram como constituintes majoritários o 1,8-cineol, α -pineno, α -phellandrene, β -phellandrene, β -terpineno, 4-terpineol, α -terpineol, p-cymene e spathulenol.

Essa variedade de compostos químicos que são constituinte dos óleos essenciais como demonstrado na Tabela 1 são parâmetros considerados na ação tóxica dos óleos essenciais. A atividade de óleos essenciais pode estar relacionada a possibilidade de que os compostos majoritários presentes sejam os responsáveis pela atividade do óleo essencial, ou ainda, a existência de sinergismo entre o composto majoritário e outro(s) componente(s) do óleo, existentes em menor fração (RIBEIRO, 2016).

4.2 Toxicidade do óleo frente *Artemia salina* (TAS)

Para o uso do óleo essencial como estratégias para buscar novas fontes a serem utilizadas no manejo integrado do mosquito *Ae. aegypti* é necessário verificar o potencial toxicológico do óleo essencial de *E. estaigeriana*. Os teste com larvas de *Artemia salina* são utilizados por serem estudos que visam gerar informações técnicas e científicas, que permitem a avaliação da presença de metabolitos no óleo essencial, e dos níveis toxicológicos alcançados por esse metabólitos por meio da anotação da eficácia alcançada em diferentes concentrações (MIELE, 2018).

A obtenção dos percentuais de mortalidade para larvas de *Artemia salina* frente as diferentes concentrações do OE foi descrito na Tabela 2.

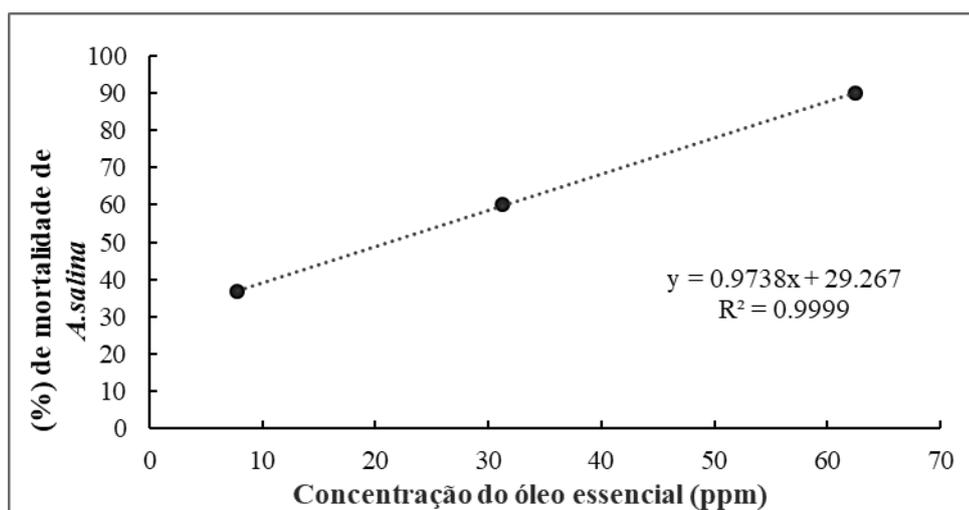
Tabela 2: Percentual de mortalidade de náuplios de *Artemia salina* frente ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.

Compostos	Concentração (ppm)/ mortalidade %								
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.91
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	100	100	100	100	90	**	66.6	36.67	30

** Problema no material

Os resultados demonstraram que o OE de *E. staigeriana* causou mortalidade em todas as concentrações testadas. Para Amarante et al. (2011) os testes de toxicidade com *Artemia salina* é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para a avaliação preliminar de toxicidade. Corroborando com a expectativa de que o OE *E. staigeriana* apresentasse compostos biologicamente ativos que poderão atuar frente a larvas do mosquito *Ae. aegypti*. Uma reta de regressão linear simples foi calculada (Figura 6) para determinar a concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀).

Figura 6: Reta de regressão obtida pela média de náuplios de *Artemia salina* mortas frente as concentrações do óleo essencial de *Eucalipto staigeriana* após 24 h



A inclinação da reta demonstrada na Figura 6 indica um efeito positivo do óleo essencial de *E. staigeriana* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, ou seja, com o aumento da concentração do óleo ocorre um aumento da mortalidade das larvas, as variáveis são

diretamente proporcionais. Com os dados da reta de regressão linear simples foi possível perceber uma relação entre a dose letal média e o grau de toxicidade.

A Tabela 3 mostra a concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de *E. staigeriana* frente a *Artemia salina*.

Tabela 3: Concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a *Artemia salina*.

Composto	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)
O. E <i>Eucalyptus staigeriana</i>	21.29	65.44

O cálculo da letalidade é utilizado para avaliar a toxicidade biológica do óleo essencial e os resultados deste estudo mostram que o óleo obtido das folhas de *E. staigeriana* apresentou-se tóxico com uma CL₅₀ < 1000, segundo MEYER et al. (1982).

Com uma CL₅₀ 21,29 e CL₉₀ 65,44 (Tabela 3) o óleo de *E. staigeriana* tem um alto teor de toxicidade. De acordo com Amarante et al. (2011) um composto tem baixa toxicidade quando a CL₅₀ for superior a 500 µg.mL⁻¹; moderada para CL₅₀ entre 100 a 500 µg.mL⁻¹ e muito tóxico quando a CL₅₀ for inferior 100 µg.mL⁻¹.

Segundo McLaughlin e Rogers (1998), o microcústacio *A.salina* é um instrumento conveniente de avaliação e fracionamento no descobrimento e monitoramento de produtos naturais bioativos.

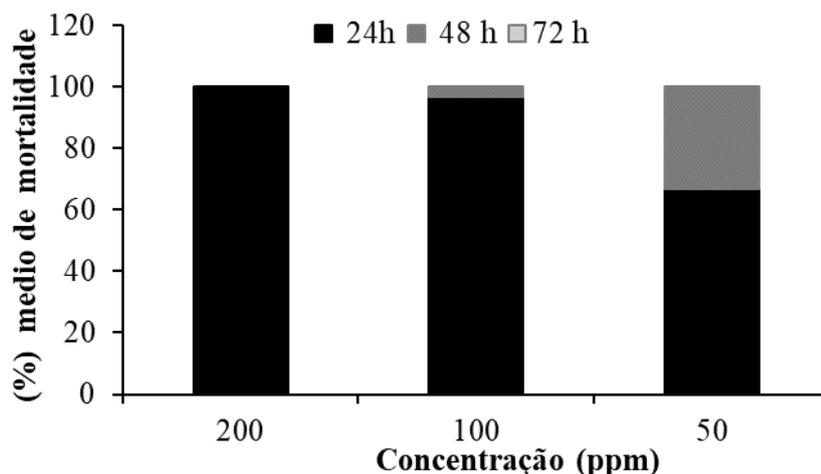
4.3 Toxicidade frente larvas de *Aedes aegypti*

Frente os resultados obtidos com o ensaio de *Artemia salina* e visando o monitoramento para compostos com bioatividade, foram realizados bioensaios com o óleo essencial de *E. staigeriana* frente a larvas de *Ae. aegypti*. Segundo Forattine (2002) a fase larval é o período de maior alimentação e crescimento no desenvolvimento dos mosquitos, desse modo fisiologicamente na fase larval o intestino é o gradiente de conexão entre o inseto e o seu meio e a resistência fisiológica dos mosquitos na forma adulta obriga a mudança constante de inseticidas, para os quais os mosquitos desenvolve fenômenos análogos.

4.3.1 *Aedes aegypti* cepa padrão

A Figura 7 mostra o percentual de mortalidade das larvas padrão (Rockefeller). No primeiro tempo de monitoramento (24 h) foi obtido um percentual de mortalidade de 100% 96.7% e 66.7% nas concentrações de 200, 100, 50 ppm, respectivamente. Em 48 h de exposição, o óleo causou a mortalidade de (100% 3.3% e 33.3%) das larvas e em 72 horas o monitoramento terminou devido à ausência de larvas vivas.

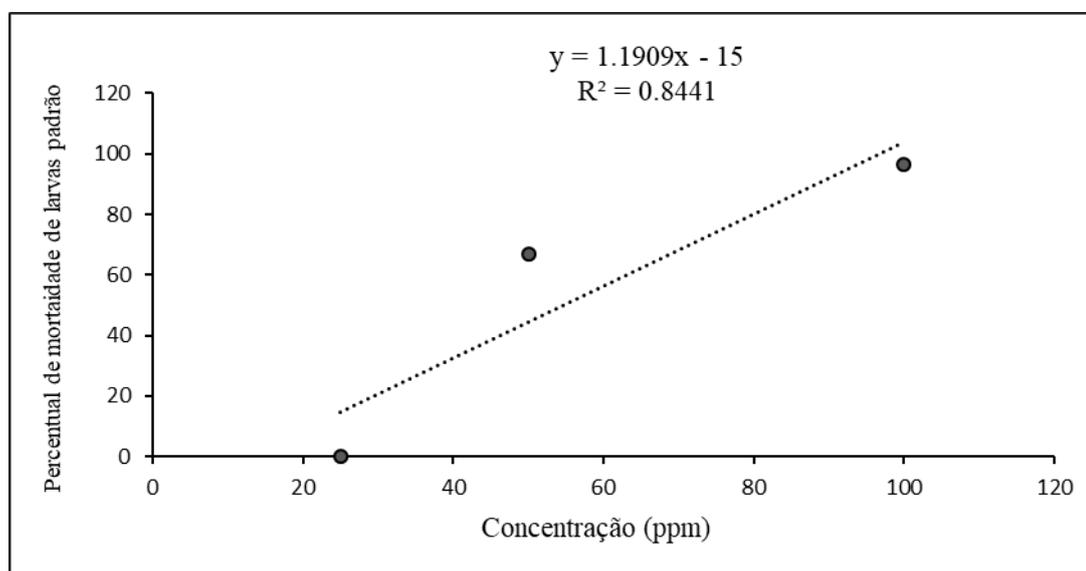
Figura 7: Percentagem de mortalidade de larvas Rockefeller (larvas de *Ae. Aegypti*) submetidos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em diferentes períodos de tempo.



Verificado o percentual de mortalidade das larvas de *Ae. Aegypti* foi calculado a reta de regressão linear simples, utilizando o percentual médio de mortalidade das larvas em 24 horas, para posteriormente cálculo da concentração letal (CL₅₀ E CL₉₀) para o óleo de *E. staigeriana*.

O cálculo da concentração letal CL₅₀ e a CL₉₀ para larvas padrão foi determinada (Tabela 4). O.E de *E. staigeriana* obteve CL₅₀ de 54.58 ppm e CL₉₀ 88.16 ppm, apresentando potencial larvicida, de acordo com xxx um óleo com CL₅₀ < 100 é um ótimo larvicida.

Figura 8: Reta de regressão obtida do número de larvas padrão de *Aedes aegypti* e as concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* após 24 horas.



Simom (2016) demonstrou a atividade larvicida do óleo essencial *E. staigeriano* em solução aquosa contra as larvas de *A. aegypti*, da linhagem Rockefeller. Em todas as concentrações testada (200,130, 100,50, 24 e 12 µg/mL) obteve-se média de mortalidade de (20, 20, 16, 20, 11 e 0%) respectivamente. Foi observando-se uma correlação positiva entre dose e resposta, resultados que corroboram com este estudo (Figura 8).

Tabela 4: Concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a larvas padrão de *Ae. aegypti*

Larvas padrão de <i>Aedes aegypti</i>	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	54.58	88.16

No trabalho realizado por Maciel et.al (2010) o óleo de *E. staigeriana* foi efetivo frente a larva de *Lutzomyia longipalpis*, com eficácia de 90,29% na concentração de 20 mg/ml. Os valores de concentração efetiva (CE50) dos óleos de *E. staigeriana*, *E. citriodora* e *E. globulus* foram de 3,6 mg/ml 9,44 mg/ml e 9,23 mg/ml respectivamente.

Isso indica que os óleos apresentam essa capacidade bioativa de atuar efetivamente frente a esses indivíduos, podendo contribuir de forma positiva para o desenvolvimento de larvicidas naturais, contribuindo para a diminuição desses vetores e para a diminuição no uso indiscriminado de larvicida sintético.

4.3.2 *Aedes aegypti* de campo

Os resultados da atividade larvicida de *E. staigeriana* frente a larvas de campo do *Ae. aegypti* demonstram que o óleo apresenta uma atividade efetiva frente as larvas. As concentrações 500, 400 e 300 ppm causaram a morte de 100% das larvas em todos os tempos de exposição, evidenciando que as mesmas são concentrações letais (Figura 9). As concentrações de 200 e 100 ppm apresentaram percentual de mortalidade variando de acordo com o tempo de monitoramento (24, 48, 72 h) (Figura 10). Nas concentrações a baixo de 50 ppm não houve mortalidade de larvas (dados não mostrados).

Figura 9: Percentagem de larvas mortas de *Ae. aegypti* submetidos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em diferentes períodos de tempo

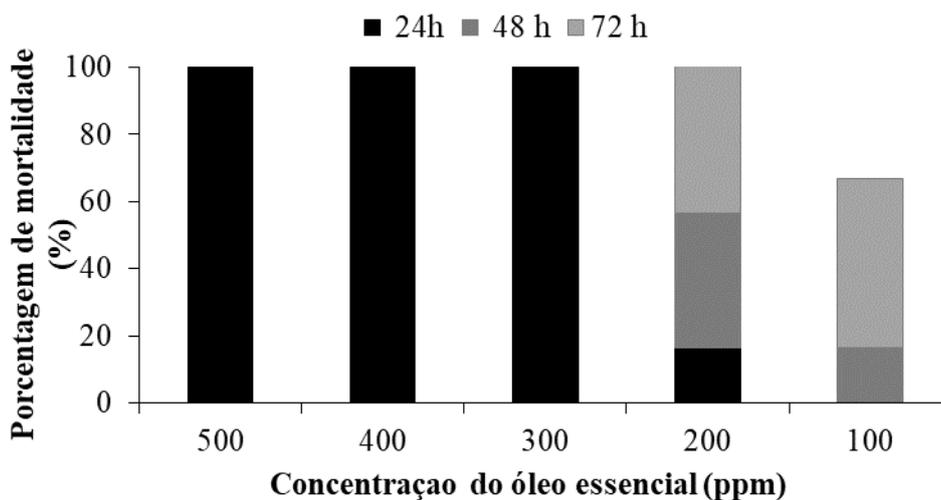
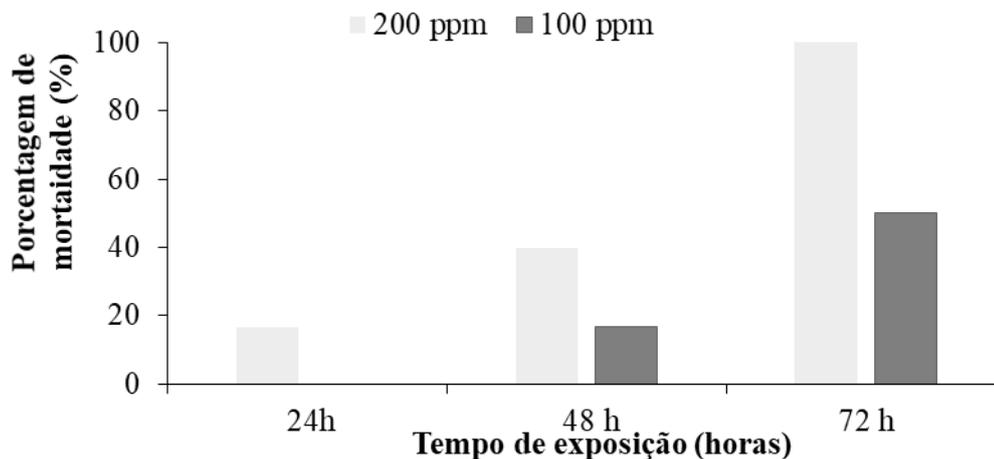


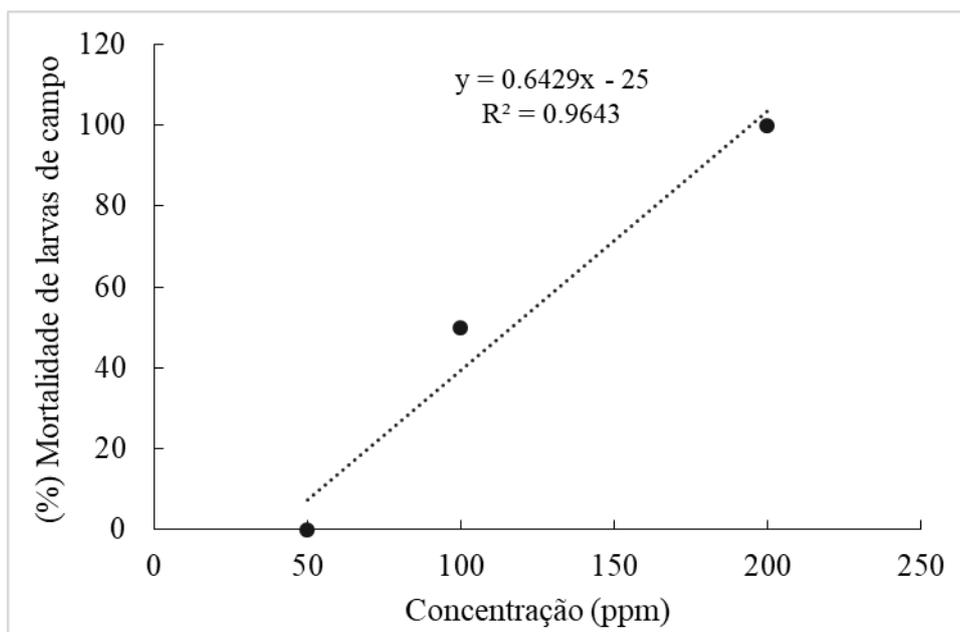
Figura 10: Percentual de mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* após diferentes tempos de exposição ao o óleo essencial de *E. staigeriana*.



Para efeito comparativo foi utilizado um grupo controle positivo (Sumilarv®) e um grupo controle negativo (água e dimetilsulfóxido DMSO). Os resultados obtidos para os tempos de 24, 48 e 72 horas de exposição das larvas frente ao Sumilarv® mostraram que o larvicida não causou mortalidade, dado que inspira preocupação para o sucesso dos programas de controle do vetor. Para o controle negativo foi observado um percentual de 3.1% de mortalidade, apenas para o tempo de 72 horas.

A reta de regressão foi calculada correlacionando a concentração do óleo com a mortalidade das larvas, após 48 horas de exposição, para verificar um possível efeito mortalidade *versus* concentração (Figura 8).

Figura 11: Reta de regressão obtida do número de larvas de *Aedes aegypti* de campo mortas e das concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* após 72 h.



A inclinação da reta indica que há uma correlação positiva entre o aumento da concentração do óleo essencial de *E. staigeriana* e o número de larvas de campo do *Ae. aegypti* mortas, ou seja, a relação da mortalidade foi diretamente proporcional à concentração do óleo, com um coeficiente de correlação ($R^2 = 0,9643$) que atesta um efeito concentração *versus* mortalidade.

De acordo com regressão linear foi determinado a concentração letal de CL_{50%} e CL_{90%}, (Tabela 6) do óleo essencial de *E. staigeriana* capaz de matar 50% e 90% das larvas

de *Ae. Aegypti* de campo, respectivamente. Os resultados foram CL₅₀ 116,66 ppm e CL₉₀ 178,87 ppm, apresentando um ótimo potencial larvicida.

Tabela 6: Concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em larvas de campo de *Ae. aegypti*.

Larvas de campo <i>Aedes aegypti</i>	CL 50	CL 90
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	116,66 ppm	178,87 ppm

A partir dos resultados de CL₅₀ (116,66 ppm) para larvas de *Ae. aegypti* de campo e CL₅₀ (54,58 ppm) para larvas padrão, o óleo essencial de *E. staigeriana* se enquadra na perspectiva de composto larvicida. A CL₅₀ para as larvas de campo foi maior que as larvas padrão, vale ressaltar que as últimas são organismos monitorados laboratorialmente para serem susceptíveis, diferentemente de organismos que advêm de coleta de campo que tem sua resistência natural, mesmo tendo em parte seu desenvolvimento em laboratório. Dessa forma monitoramentos assim são muito importantes do ponto de vista de formulação e aplicação de um possível produto final em situações reais de campo.

Percentuais de mortalidade de larvas também é influenciado pela interação da composição química do óleo. Segundo Garcez et al. (2013) existem uma forte presença de algumas classes de metabólitos secundários, com diferentes estruturas, tais como quinonas, amidas, limonoides, estilbenos, cumarinas e sesquiterpenos que expressam uma atividade significativa sobre larvas do *Ae. aegypti*.

Os óleos essenciais apresentam capacidade de desenvolver interação fisiológica com as larvas, interrompendo o seu ciclo de vida e diminuindo a quantidade de indivíduos que chegariam a fase adulta. Indicando assim uma fonte alternativa de compostos para o manejo integrado do vetor *Ae. aegypti* na perspectiva de obter a redução da utilização de inseticidas químicos que podem levar ao surgimento de populações resistente.

XXX

CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* apresentou ação frente a larvas de campo de *Ae. Aegypti* e surge como uma fonte alternativa de composto bioativo viável e de grande potencial para o controle da dengue e de outras arboviroses. Estes resultados são promissores e abrem caminho para novos estudos com uma amostragem maior de plantas, entendimento do mecanismos de ação do óleo essencial e verificação do composto(os) bioativo(os) do óleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABED, R.; CAVASIN, G. M.; SILVA, H. H. G.; GERIS, R. SILVA, I.G. Alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pela atividade larvicida do óleo-resina da planta medicinal *Copaifera reticulata* Duck (Leguminosa). **Revista de patologia tropical**. v. 36, n. 1, jan. 2007.
- ACHEE N.L, GOULD F, PERKINS T.A, REINER.R.C Jr, MORRISON AC, RITCHIE S.A.; A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. v. 9, n. 5, p. 1-19, 2015.
- ACIOLE, S. D. G. **Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas Amazônicas Myrtaceae como alternativa de controle às larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. 86 f. Tese (mestrado em biologia humana e ambiental) - Universidade de Lisboa, Portugal.
- ARAÚJO, H. R. C. **Caracterização morfológica dos hemócitos do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus* e a resposta imune dos hemocitos do *Aedes aegypti* após a infecção pelo Dengue vírus**. 2011. 191 f. Tese de Doutorado (Biologia celular e molecular) - Centro de pesquisa René Rachou, Belo Horizonte.
- BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v.16 n.4, p.279-293, out-dez, 2007. Brasília. 2007.
- BEMFICA, R.S. **Óleo essencial de Eucalypto como bio estimulador da micorrização e sibipiruna em solo contaminado com cobre**. 2010. 229 f. Tese (Programa de pós graduação em ciência do solo) Universidade Federal de Santa Maria , Santa Maria.
- BOSCARDIN, P. M. D. **Morfoanatomia fotoquímica e atividades biológicas de *Eucalyptus benthamii* Maiden Et Cambage- Myrtaceae**. 2009. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- COSTA, C. D.; AVILLA, M.; CANTARELLI, E.B. Entomologia florestal. 2014
- CAVALCA, P.A.M.; LOLIS, M.I.G.A.; REIS, B.; BONATO, C.M. Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinerea* essential oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives Biology and Technology**. Curitiba, PR, v.53, n. 4, p. 835-843 2010.
- CONSOLI, R. A.G.B.; OLIVEIRA, R. L. DE. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228p.
- CARBONARO, E. S.; ARRUDA, E. J.; OLIVEIRA, L. C. S.; ARAKAKI, A. H.; JUNIOR, A.M. Síntese de novos ativos larvicidas para controle populacional *Aedes aegypti* (diptera: culicidae). **Revista brasileira de inovação tecnológica em saúde**. v. 5, n. 3, p. 1-17. 2015.
- CHANTRAINE, J.M.; LAURENT, D.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R.; VILASECA, L.A. Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. **Phytotherapy Research**. v. 12, p. 350-354, 1998.

CHAGAS, A.C de S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. In: **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, p. 156-160, 2004.

COELHO, W.M.D.; COELHO, J.C.A.; BRESCIANI, K.D.S.; W.A.S. Biological control of *Anopheles darlingi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae using shrimps. **Parasite Epidemiol. Control**, v.2, p. 91-96, 2017.

DIAS, C. N. **Avaliação da atividade larvicida em *Aedes Aegypti* L. (Diptera: Culicidae) de óleos essenciais de espécies vegetais: um estudo de revisão e bioprospecção**. 2013. 121 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

DE AZEVEDO, F. A. A Toxicologia e o Futuro. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 3, n. 3, p.1-17, 2015.)

DO AMARANTE, C. B.; MÜLLER, A.H.; PÓVOA, M.M.; DOLABELA, M.F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p.431-434, 2011.

DIAS, C. N; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

DE SOUZA, E. M.; CHAVES, L. M.; MUNIZ, J. A. Avaliação dos métodos: Probit, Probit Isotonizado E Up And Down em dados de sensibilidade. 2010.

BESERRA, E. B.; CARLOS, R. M.; FERNANDES.; MAIENE DE F. C.; DE QUEIROGA.; FRANCISCO P. DE C. JR. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**. v.36, n.2, p.303-307, 2007.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A. J. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista brasileira de farmacognosia**. João Pessoa, v. 18, oct. 2008.

FONSECA, G. F. **Dengue no Brasil: tendências, vigilâncias e as epidemias 2008**. Dissertação (Mestre na área de concentração de Epidemiologia) - Universidade Federal de Goiás, Goiás 2009.

FUNASA. **Dengue. Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. Manual de Normas Técnicas**. Brasília, 3. ed. Brasília, 2001.

FIGUEIREDO, A.C.; PEDRO, L.G.; BARROSO, J.G.; TRINDADE, H.; SANCHES, J.; OLIVEIRA, C.; CORREIA, M. Óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus*. **Tecnologia agroalimentar**. p.96-100. 2013.

FOURNIER, D.; MUTERO, A. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticide. *Comparative Biochemistry Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. v.108, p.19-31, 1994.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica. Identificação, biologia e epidemiologia**. Vol I. Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

FORATTINE, O. P. **Culicidologia médica**. 1. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996.

GUBLER, J, Duane. **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. 2. ed. Singapura: Cabi, 2014. 624 p.

GUSMÃO, N. M. S.; DE OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. do A. F.; DUTRA, K. A.; DA SILVA, W. A.; WANDERLEY, M. J. A. Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). **Journal of Stored Products Research**, v.54, p. 41–47, 2013

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; DA SILVA L. M. G. E.; SARMENTO U. C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GAIAD, S.; CARVALHO, P.E.R. Agência Embrapa de informações e tecnologias. Disponível em:<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fu1i7dcc02wyiv807nyi6ssr5gflc.html> Acessado em: 13 de novembro de 2018.

JESUS, E. R.; ELLEN SOHN, R. M.; BARIN, C. S. Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*: otimização do método analítico. **UNOPAR Científica, Ciências, Exatas, Tecnologia**. Londrina, v. 6, p. 67-72, nov. 2007.

JANTAN, I.; YALVEMA, M.F.; AHMAD, N.W.; JAMAL, J.A. Insecticidal activities of the leaf oils of eight *Cinnamomum* species against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Pharmaceutical Biology**. v. 43, p. 526-532, 2005.

KOKESTSU, M.; GONCALVES, S. L. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. Rio de Janeiro. EMBRAPA CTAA, 1991. p.24.

LUPI, O.; CARNEIRO C.G.; COELHO I.C.B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **Anais Brasileiro de Dermatologia**.n. 82(4). p. 291-305 2007.

LIMA, W. P.; NETO, F.C.; MACORIS, M.L.G.; ZUCCARIL, D. A. P. C.; DIBO, M.R. Estabelecimento de metodologia para alimentação de *Aedes aegypti* (Diptera-Culicidae) em camundongos swiss e avaliação da toxicidade e do efeito residual do óleo essencial de *Tagetes minuta* L (Asteraceae) em populações de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 638-641, 2009.

LOZOVEI, A. L. 2001. Culicídeos (mosquitos), p. 59-104. In: MARCONDES, C. B. (ed.). **Entomologia Médica e Veterinária**. Editora Atheneu, 432 p.

LUCIO, A.; LICASTRO, S.; ZERBA, E.; MASUH, E. Yield chemical composition, and bioactivity of essential oils from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. **The Netherlands Entomological Society**. v.129 p.107–114. 2008.

LIMA, M. G. A.; MAIA, I. C. C.; SOUSA, B. D.; MORAIS, S. M.; FREITAS, S. M. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 4, p. 211-214, 2006.

MORAIS, L.A. S de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura brasileira**. São Paulo, v. 27, n.2, ago. 2009.

MACHADO, L. M. M.; NASCIMENTO, R. S.; ROSA, G. S. Estudo da extração de óleo essencial e de compostos bioativos das folhas de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **XX Congresso Brasileiro de engenharia química**. v.1, p. 1-7, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue**: Descrição da doença. Disponível em: <<http://www.portalsaude.saude.gov.br>>. Acesso em: 30 set. 2017.

MACIEL, M.V.; MORAIS, M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SILVA, R.S.; SOUSA, R.N.; BRITO E.S.; NETO, M.A.S. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**. V.167. p. 1-7, 2010.

MOORE C.G.; FRANCY, D.B.; ELIASON, D.A.; MONATH T.P. *Aedes albopictus* in the United States: rapid spread of a potential disease vector. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 4, n. 3, p. 356-361, 1988.

MALECK, M.; FERREIRA, B.; MALLETT, J.; GUIMARAES, A.; KATO, M. Cytotoxicity of Piperamides Towards *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**. n.51, p. 458-463. 2014.

MESQUITA, M.A. **Atividade do óleo essencial encapsulado de *Eucalyptus staigeriana* sobre nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes**. 2012. 52 f. Mestre em Ciências Veterinárias. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. A.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Journal of Planta Medicinal**. v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MOURA, N. S.; VASCONCELOS, A. C. M. B.; BERNABÉ, B. M.; TEIXEIRA, L. J.Q.; SARAIVA, S. H. Ensaios toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p. 2012.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; MANSUR-FIGUEIRA, J.; Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional Ciência Tecnologia Entomologia Molecular**, v. 15, p. 1-23, 2012.

MIELE, P.R. **Diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins** Disponível em <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1/1992/prt0003_16_01_1992.html> Acessado em: 11 de novembro de 2018.

MORETTO, L D.; RABINOVITCH, L. Insetos transmissores de doenças antigas e novos desafios. **UP Pharma**. n.158. p.10-12, jan/fev2016

MCLAUGHLIN, J.L; ROGERS, L.L; ANDERSON, J.E. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Inf**. v.32. p.513-24,1998.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.
NISHIMURA, H. Aroma constituents in plants and their repellent activities against mosquitoes. **Aroma Research**. v. 2, 257-267, 2001.;

NARCISO, J.O.A.; SOARES, R.O.A.; MALLET, J.R.S.; GUIMARAES, A.E.; CHAVES, M.C.O.; FILHO, J.M.B.; MALECK, M.; Burchellin: study of bioactivity against *Aedes aegypti*. **Parasit Vectors**. Apr 2014.

NÚNCIO, Maria Sofia; ALVES, Maria João. Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores. ed. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. 2014. p.182

POMBO, A. P. M. M. **Aedes aegypti: morfologia, morfometria do ovo, desenvolvimento embrionário e aspectos relacionados à vigilância entomológica no Município de São Paulo**. 2016. 134 f. Tese doutorado (Anatomia dos animais domésticos e silvestre da Faculdade de medicina veterinária e zootecnia). Universidade de São Paulo.

REY, J.R.; LOUNIBOS P. Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión de enfermedades. **Biomédica**.v.35. n.2. p.85-177. 2015.

RATTAN, R.S.; Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**. v. 29, p. 913-920, 2010.

ROMMINGER, S. Isolamento, identificação e investigação de rotas biosintéticas de produtos naturais de micro-organismos marinhos. 2013. 2.v. tese doutorado- instituto de química de São Carlos, Universidade de São Paulo São Carlos, 2013.

RÍOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E.; Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, n. 4, p. 307-311, 2017.

RIBEIRO, E. C. G. **Atividade moluscicida de óleos essenciais de plantas aromáticas da região Amazônica maranhense**. 2016. 91 f. Dissertação (Mestre em saúde ambiental) - Universidade Federal do Maranhão , São Luís .

SOUSA, I. J. O.; PEREIRA, R.N.S.; LIMA, R, P.; ROSA G.S.; GONÇALVES R, L, G.; NETO, M. P.L. Análise da toxicidade do extrato hidroalcoólico da poupa do fruto seco de *Luffa operculata* frente a náuplios de *artemia salina* e meristemas de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 14, n. 4, p. 66-75, 2017.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEICAO, S. R. KUSTER. R. M.; FILHO, O. M. A. Produtos naturais para controle da transmissão da dengue – atividade larvicida *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e terpenóides e fenil propanóides. **Quimica nova**. vol.27, n.1, p.46-9, São Paulo 2004.

SANTANA, H.T.; TRINDADE. INGES F.T.T.; STABELI R. G.; SILVA. A.A.E. MILITÃO. J.S.T.L.; FACUNDO. V.A. Óleo essencial da folha de espécies de Piper exibem atividade larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista brasileira de plantas medicinais**. vol.17 no.1 Botucatu Jan./Mar. 2015.

SILVA, J. S.; MARIANO, Z. F.; SCOPAL, I. A dengue o Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação as políticas de controle. **Hygeia: Revista brasileira de geografia médica e da saúde**. Uberlandia, v. 4, n. 6, p. 163-175, Jun. 2008.

SANTOS, M. M. **Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcoólico da espécie *Anacardium occidentale* Linneu**. 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Universidade Federal do Amapá, Macapá.

SILVA, T. C. C.; SANTOS, A.P. B.; MOUSSALLEM, T.M.; KOSKI, A. P. V.; NADER, P. R. A. Aspectos Epidemiológicos da Chikungunya no Estado do Espírito Santo. **Revista guará**, n.9.v. 6 p. 21-30. 2018.

SIMOM, Y. G. **Avaliação do potencial larvicida e mecanismos do óleo essencial de *Eucalyptus staegeriana* contra o mosquito *Aedes aegypti***. 2016. 139 f. Tese (Mestrado em engenharia química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DE SOUZA, E.M.; CHAVES, L.M.; MUNIZ, J.A. Avaliação dos métodos: Probit, Probit Isotonizado E Up And Down em dados de sensibilidade. Disponível em:<http://www.ime.unicamp.br/sinape/sites/default/files/Lucas%20Monteiro.pdf>: Acesso em: 31 de novembro de 2018 às 10:00.

DE SOUZA, E. M.; CHAVES, L.; M; MUNIZ, J. A. Avaliação dos métodos: Probit, Probit Isotonizado E Up And Down em dados de sensibilidade. 2010.

SILVA, R. A. do; NEVES, V.L.F. C.; MARCORIS, M. L.G.; ALVES, M.C.P.; DUTRA, A.P. MARQUES, G.R.A. LUIZ, T. Manual de Vigilância Entomológica de *Aedes aegypti*. **Superintendência de Controle de Endemias**. v.1, p. 56-56, 1997.

THONGWAT, D.; LAMLERTTHON, S.; PIMOLSRI, U.; NOPHAWAN, B. Larvicidal activity of endocarp and seed crude extracts of *Dracaena loureiri* Gagnep against *Aedes aegypti* (L.) mosquito. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 3, p. 222-226, 2017.

CAMARA, T.N.L. Arboviroses emergente e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v.50, p.1-7, 2016.

ZARA, A. L.S.A.; SANTOS, S. M.; OLIVEIRA, E, S, F.; CARVALHO, R,G.; COELHO, G,C. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**. v.25 n.2 Brasília abr./jun. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.** Geneva: World Health Organization;2009.
< <http://www.who.int/iris/handle/10665/44188>>. Acessado em 05 de outubro de 2017.

VASCONCELOS, P. F. da C. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, p. 244-258, 2002

YU, Ke-Xin, WONG, Ching-Lee. AHMAD, R.; JANTAN, I. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 8, n. 12, p. 1006-1012, 2015.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
"JOSÉ ALBANO DE MACEDO"**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
() Monografia
() Artigo

Eu, Marina Lucia de Sousa Silva,
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Avaliação da suscetibilidade de larvas de campo do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)
(dieta, salicida) ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* F. Muell
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 08 de Abril de 2019.

Marina Lucia de Sousa Silva
Assinatura

Assinatura