



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

FERNANDA MARIA AMORIM DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA DE
Algrizea minor **COMO ALTERNATIVA NO COMBATE DO**
MOSQUITO *Aedes aegypti*

Recife
2021

FERNANDA MARIA AMORIM DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA DE
Algrizea minor **COMO ALTERNATIVA NO COMBATE DO**
MOSQUITO *Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas com Ênfase em Ciências Ambientais.

Orientador (a): Prof. Dr^a Marcia Vanusa da Silva
Coorientador (a): Doutorando Bruno Oliveira de Veras

Recife
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do
SIB/UFPE

Santos, Fernanda Maria. A. dos S..
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATVIDADE LARVICIDA DE
Algrizea minor COMO ALTERNATIVA NO COMBATE DO
MOSQUITO Aedes
aegypti / Fernanda Maria. A. dos S. Santos. - Recife, 2021.
38 : il., tab.

Orientador(a): Marcia Vanusa da Silva
Silva Coorientador(a): Bruno de
Oliveira Veras Veras
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências,
Ciências Biológicas /Ciências Ambientais - Bacharelado,
2021.
Inclui referências, apêndices, anexos.

FERNANDA MARIA AMORIM DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA DE
Algrizea minor COMO ALTERNATIVA NO COMBATE DO
MOSQUITO *Aedes aegypti***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas com
ênfase em Ciências Ambientais, da
Universidade Federal de Pernambuco, como
parte dos requisitos à obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Data de Aprovação: 06/12/2021

Nota: 9,7

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva (Orientador)

Departamento de Bioquímica/ Centro de Biociências – UFPE

Me. João Victor de Oliveira alves (1º Titular)

Departamento de Bioquímica - UFPE

Me. Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar (2º Titular)

Departamento de Química Fundamental – UFPE

Recife

2021

Dedico este trabalho aos meus avós, Weydes e Fernando, pelo amor que me deram, por sempre me apoiarem a vida inteira, e por acreditarem em mim. Dedico aos meus pais, Mônica e Fernando, pela confiança que em toda vida depositaram em mim e por estarem sempre presente ao meu lado. Dedico também à minha irmã, Flávia, que seguiremos sempre uma à mão da outra. Dedico ao meu noivo, Gabriel, por ser meu suporte de todas as horas e por acreditar em mim. Dedico a toda minha rede de apoio familiar e institucional.

*Dedico o meu apoio à ciência e a todas as vítimas da
pandemia do Sars-CoV-2.*

AGRADECIMENTOS

À Professora Marcia Vanusa da Silva, pelas orientações, pelos ensinamentos, pela compreensão, e pelo auxílio durante toda minha graduação.

À Bruno Oliveira de Veras, pela paciência, pelo amparo sempre que precisei, pela presença de todas as horas, e pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À Júlio César pela paciência, pelo apoio e assistência sempre presente, e pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais, pelo apoio sempre que precisei.

Ao CNPQ pelo apoio científico e financeiro e a Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de trajetória.

RESUMO

No Brasil e no mundo, o mosquito *Aedes aegypti* é responsável pela transmissão de arboviroses, são elas a dengue, chikungunya, zika e febre amarela, que necessitam de alternativas eficientes no controle do mesmo. Este vetor ocasiona um problema de saúde em escala global, apresentando resistências aos métodos convencionais utilizados no seu controle, ocasionando grandes índices de casos de arboviroses anualmente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química do óleo essencial das folhas de *Algrizea minor* e testar atividade biológica larvícida contra *Aedes aegypti*. O material vegetal foi coletado no Parque Nacional do Catimbau, o óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação e caracterizado por cromatografia gasosa, onde, posteriormente, foi realizado o teste larvícida e analisado estatisticamente. O OE apresentou um rendimento de 0,57% sendo identificados 15 componentes, tratando-se o β -Pineno do composto majoritário. *A. minor* exibiu uma atividade larvícida moderada, apresentando o LC₅₀ igual a 60,76 $\pm$ 2,60 ppm, contra larvas de *Aedes aegypti* no estado larval (quarta fase inicial), destacando-se como um potencial inseticida natural, podendo ainda ser potencializado de forma sustentável e ecológica.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. *Algrizea minor*. Caatinga. Inseticida natural. Óleo essencial.

ABSTRACT

In Brazil and worldwide, the *Aedes aegypti* is responsible by arboviroses transmission, mosquito-borne diseases, known as dengue virus, chikungunya, Zika virus and yellow fever, needing efficient alternatives against them. This vector causes a worldwide health issue, exhibiting resistance to conventional methods used for its control, increasing the arboviroses cases annually. This work aimed to assess the chemical composition of essential oil (EO) from *Algrizea minor* leaves and test the larvicide biological activity against *Aedes aegypti*. The plant sample was collected in Catimbau National Park, the essential oil was extracted by hydrodistillation method and characterized by gas chromatography technique. The larvicide test was performed and statistically analyzed. The EO yield observed was 0,57%, being indentified 15 components, including β -pinene, the major compound. *A. minor* exhibited a moderate larvicide activity, showing LC_{50} equals to $60,76 \pm 2,60$ ppt against *Aedes aegypti* larvae (fourth initial stage), standind out as a potential natural insecticide, witch can also be used in a sustainable and ecological way.

Keywords: *Aedes aegypti*. *Algrizea minor*. Caatinga. Essential oil. Natural insecticide

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Mapa de distribuição distribuição mundial do <i>Aedes aegypti</i> e <i>A. albopictus</i>	15
Gráfico 1 –	Distribuição dos casos notificados de Dengue, Chikungunya e Zika nas Américas.....	16
Figura 2	Características e fisionomia do inseto; fêmea com seu aparato bucal picador-sugador; necessidade de hematofagia para desenvolvimento dos ovos.....	17
Figura 3	Ciclo de vida do inseto <i>Aedes aegypti</i>	18
Gráfico 2 –	Espécies por estado brasileiro.....	21
Gráfico 3 –	Espécies por domínio fitogeográfico.....	21
Figura 2 –	<i>Algrizea minor</i>	22
Gráfico 4 –	Gráfico de análise de sobrevivência do <i>probit</i>	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química do óleo essencial de A. minor.....	26
Tabela 2 –	Dados estatísticos obtidos no teste larvicida.....	28

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO.....	12
2.0	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3.0	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1	O VETOR <i>Aedes aegypti</i> E SUAS INFLUÊNCIAS.....	15
3.2	MÉTODOS DE CONTROLE E PROBLEMÁTICAS.....	17
3.3	NOVAS PERSPECTIVAS DE COMBATE AO <i>Aedes aegypti</i> NO BIOMA CAATINGA.....	18
3.4	<i>Algrizea minor</i> : INEDITISMO E POTENCIALIDADE.....	19
4.0	METODOLOGIA.....	22
4.1	COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	22
4.2	OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	22
4.3	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL..	22
4.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>A. minor</i>	23
4.4.1	Insetos.....	23
4.4.2	Atividade larvicida.....	23
4.4.3	Análises estatísticas.....	23
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>A. minor</i> E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO OE.....	24
5.2	ATIVIDADE LARVICIDA.....	26
6.0	CONCLUSÃO.....	29
7.0	REFERÊNCIAS	
	APÊNDICE	

1.0 INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor responsável pela transmissão de arboviroses causadoras de várias doenças como a chikungunya (CHIKV), dengue (DENV), zika vírus (ZIKV) e febre amarela (YFV), as quais atingem milhões de pessoas ao redor do mundo (ZARA et al., 2016). Essas doenças trazem graves consequências à população e à economia local, interferindo nas atividades laborais, impactos no sistema de saúde e até síndromes que podem causar incapacidades permanentes ao ser humano (DONALISIO et al., 2017).

Esse vetor se adaptou muito bem às grandes cidades principalmente em regiões de clima quente, úmido e sem saneamento básico (RIBEIRO, 2013). O Brasil, por exemplo, representa um país com condições ambientais favoráveis para a permanência e disseminação do mosquito, considerando sua adaptação à urbanização crescente, e ao insucesso do seu controle (GOULD et al., 2017). Sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos principais problemas de saúde pública no mundo (Bhatt et al., 2013). Em meio a pandemia do SARS-CoV-2, mais de 1,6 milhão de casos de dengue foram registrados nas Américas nos primeiros cinco meses de 2020 (OPAS, 2020), dados alarmantes que afetam diretamente o desenvolvimento dos países.

Constantemente, são designados valores significativos para programas de combate ao vetor, porém surtos de epidemias são recorrentes pela falta de sucesso no combate ao vetor e resistência às substâncias utilizadas. Com isso, o aumento de mosquitos mais imunes aos inseticidas convencionais vem atualmente despertando o interesse de se encontrar compostos químicos de origem natural que combatam o *A. aegypti* em quaisquer estágios de seu ciclo de vida, visto que estes apresentam baixa ou nula contaminação ambiental, assim como humana, outra grande vantagem é sua complexidade na formulação o que diminui índices de resistências. Dessa forma, a busca por novas substâncias se torna fundamental para reduzir os crescentes números de contaminações e danos ocasionados por esse vetor. (SANTOS 2014), já que, inseticidas químicos geram danos ao meio ambiente tais como a alteração da composição genética da população-alvo, elevando o índice de indivíduos resistentes, intoxicação humana, contaminação ambiental, entre outros (SPADOTTO et al., 2004).

Logo, uma boa alternativa para o combate aos mosquitos, é o uso de óleos essenciais extraídos de materiais vegetais, as plantas. Sendo o bioma Caatinga, território ideal para estudos direcionados para aplicação de desenvolvimentos tecnológicos de produtos naturais, visto sua imensa biodiversidade com grande potencial pouco explorada (CARVALHO; SILVEIRA, 2010). Os óleos essenciais são formados por diferentes classes de compostos como ésteres de ácidos graxos, mono e sesquiterpenos, fenilpropanonas álcoois, aldeídos e hidrocarbonetos alifáticos. Eles apresentam alta volatilidade e um acentuado caráter lipofílico. (SIMÕES, 2017). Esses óleos têm diversas aplicações, por exemplo, em indústrias farmacêuticas e cosméticas por possuírem uma menor toxicidade e apresentarem uma gama de atividades biológicas (TRANCOSO, 2013).

Dentre as espécies encontradas no bioma Caatinga, destaca-se a espécie do gênero da *Algrizea* da família *Myrtaceae*, foi há pouco tempo descrita por Sobral, Faria e Proença no estado da Bahia (FLORA DO BRASIL 2020). *Algrizea minor* é uma espécie endêmica do Nordeste brasileiro, pouco se conhece sobre sua bioatividade e até o tempo presente somente um registro de estudos de atividade biológica com *A. minor* é encontrado na literatura científica consultada, onde mostra a sua potencialidade antimicrobiana, antinociceptiva, toxicidade aguda e atividade antioxidante do OE (Veras et al., 2019).

Nessa perspectiva o objetivo geral do trabalho, foi determinar a composição química e avaliar a atividade larvícida do óleo essencial obtido das folhas de *Algrizea minor* frente ao *A. aegypti*.

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os constituintes químicos e a ação larvícida do óleo essencial, obtido por hidrodestilação, das folhas de *Algrizia minior* no combate ao mosquito *A. aegypti*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

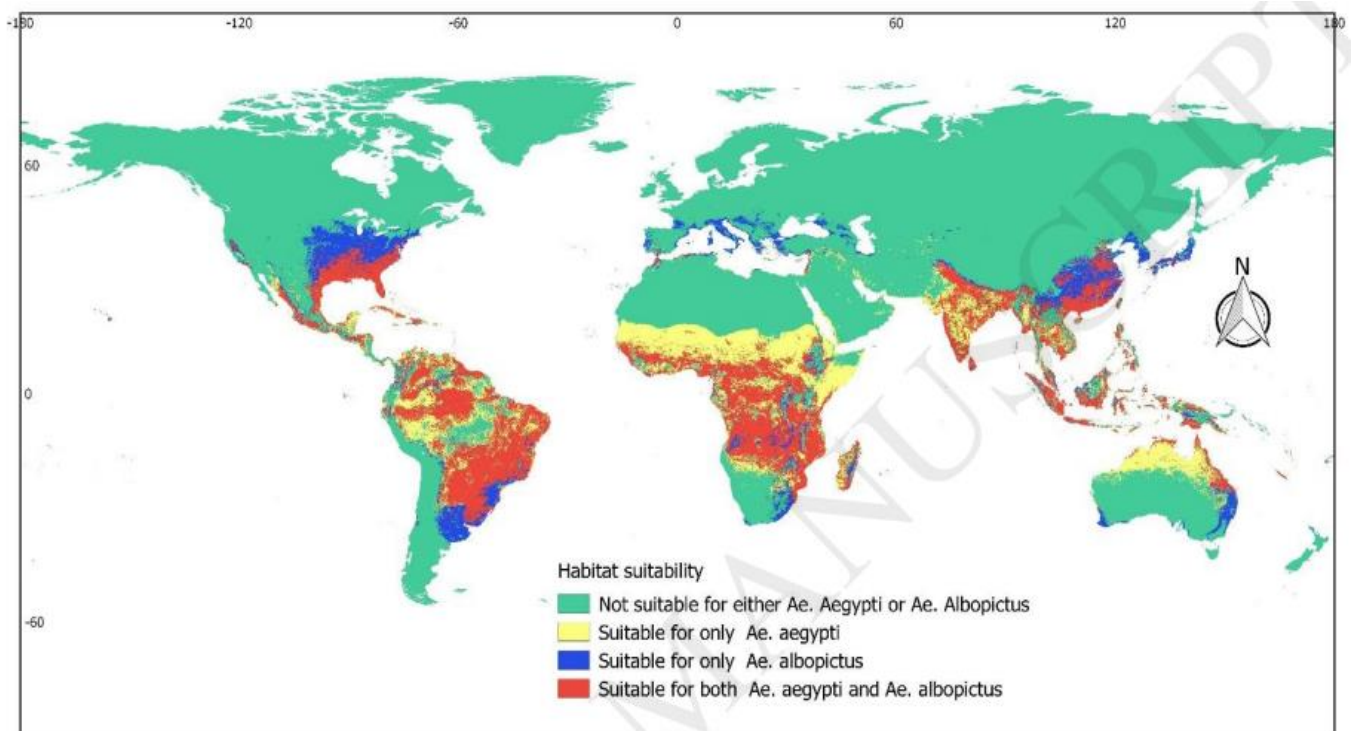
- Extrair por hidrodestilação o óleo essencial das folhas de *Algrizia minior*;
- Avaliar a atividade larvícida do óleo essencial frente às larvas em estágio L4 do mosquito *A. aegypti*;
- Determinar a dosagem letal para a mortalidade de 50% das larvas do mosquito *A. aegypti* (LC₅₀);
- Elucidar a composição química do óleo essencial das folhas de *A. minior* pela técnica de Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetria de massa (CG-EM);
- Quantificar a composição química do óleo essencial das folhas de *A. minior* pela técnica de Cromatografia Gasosa usando um detector tipo ionização em chama (DIC).

3.0 REFERENCIAL

3.1 O VETOR *Aedes aegypti* E SUAS INFLUÊNCIAS

O mosquito *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae), o principal vetor de inúmeras doenças, é nativo de florestas tropicais da África, e sua disseminação pelo mundo decorreu devido a escravidão do povo Africano, estando presente nas regiões tropicais do globo, onde os biomas se assemelham (LETA e KRAEMER, 2018). Conforme figura 1, segundo LETA et al. (2018), a distribuição mundial de *A. aegypti* apresentou focos de adequação em 188 países/territórios, considerando um total de 250 territórios pesquisados. Sendo os territórios potencialmente adequados para a existência e desenvolvimento de *A. aegypti*: no sul dos EUA, Caribe, América do Sul, África subsaariana, subcontinente indiano, sudeste da Ásia e alguns países do Pacífico.

Figura 1 – Mapa de distribuição mundial do *Aedes aegypti* e *A. albopictus*



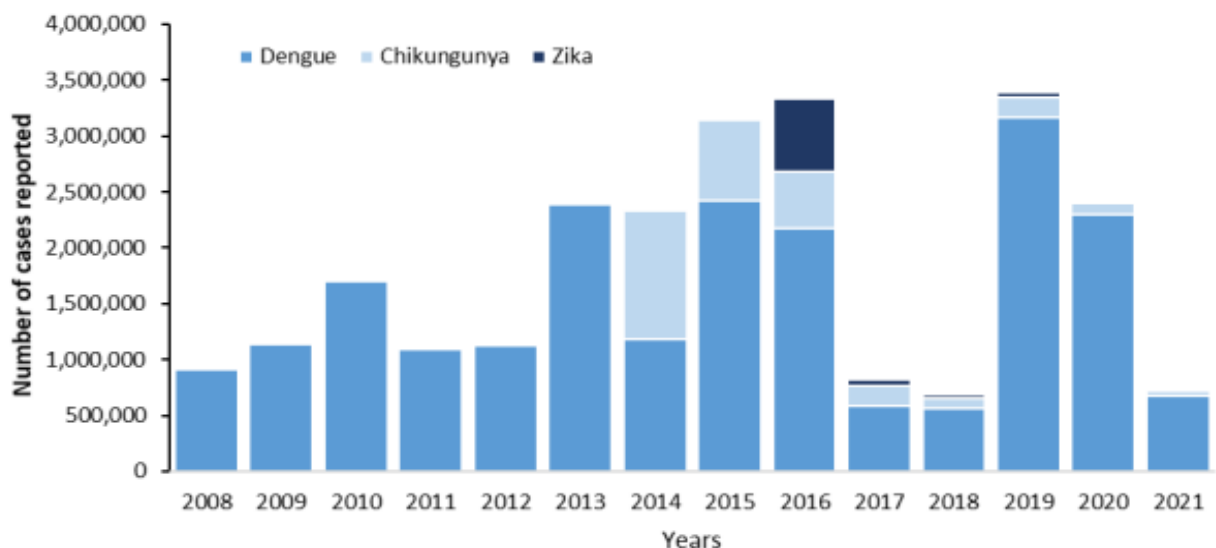
Fonte: International Journal Of Infectious Diseases, v. 67, p. 25-35, fev. 2018.

Considerando que, o *A. aegypti* é o principal responsável por transmitir quatro agentes etiológicos, sendo eles a dengue, contendo quatro sorotipos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 E DEN-4) onde, segundo Ministério da Saúde (2019) a pessoa infectada por um sorotipo apresenta imunidade não podendo ser contaminada com a mesma cepa viral, o zika vírus, que está relacionado às altas ocorrências de microcefalia em

período de surto, onde se trata de infecção assintomática em gestantes, visto que não relatam sintomas da doença, chikungunya, que está associada à artralgia crônica, podendo permanecer por até três anos e provocar sequelas pelo resto da vida do infectado, referentes à artrite e reumatismo, por fim, a febre amarela, que segundo a Sociedade Brasileira de Infectologia (2017) mesmo apresentando apenas um tipo de vírus, a febre amarela dispõe de dois ciclos de transmissão, urbano (ciclo homem-mosquito-homem) e silvestre (ciclo macaco-mosquito-homem) (LIMA, et al., 2021).

Segundo bases da Organização Pan-Americana da Saúde OPAS (2021) divulgou que, na Região das Américas um total de 728.831 casos de patologia arboviral, sendo 673.148 (92,3%) foram casos de dengue, 49.671 foram casos de chikungunya e 6.012 foram casos de zika até metade do ano de 2021. Sendo registrada a maior proporção das três enfermidades pelo Brasil, sendo chikungunya com 48.044 (97%) ocorrências, seguido de zika com 5.092 casos (85%) e dengue com 559.587 (83%), sendo os estados brasileiros mais afetados Sudeste e Nordeste, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Ressaltando que, números estes, são consideravelmente menores que os do ano anterior, conforme Gráfico 1, ainda com a sindemia do SARS-CoV-2 e arboviroses.

Gráfico 1 - Gráfico de distribuição dos casos notificados de Dengue, Chikungunya e Zika.



Fonte: Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), atualização epidemiológica, 2021.

De acordo com a Figura 2 o mosquito *A. aegypti* é menor que os mosquitos comuns, têm, em média, 0,5 cm de comprimento. De cor mais escura, apresentam

anéis brancos contrastando sua cor no dorso, nos segmentos abdominais, na cabeça e patas. (POMBO, 2016).

Figura 2 - Características e fisionomia do inseto; fêmea com seu aparato bucal picador-sugador; necessidade de hematofagia para desenvolvimento dos ovos.

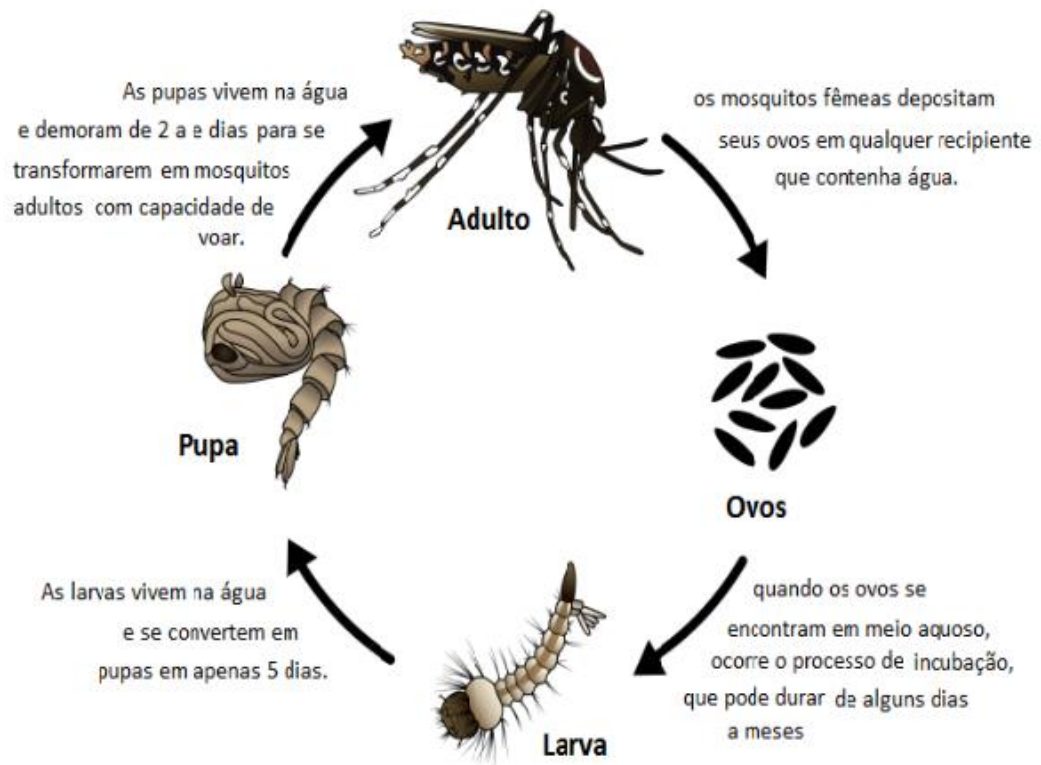


Fonte: Prefeitura de Caxias do Sul. Vigilância Ambiental já identificou nove focos do *Aedes aegypti* em Caxias do Sul, 2020.

Segundo estudos de comportamento animal, sua etologia beneficia sua vasta dispersão, com hábito antropofílico, proporciona a presença em meios urbanos preferentemente no intra e peridomicílio humano (ZARA et al., 2016). Seus criadouros são recipientes artificiais, como os de uso doméstico operados para depósito de água, bem como àqueles expostos a flutuações temporais. A frequência destes criadouros em meios de coexistência facilita sua acelerada reprodução, em virtude de cenários ideais para procriação e nutrição.

O ciclo de vida do *A. aegypti* em condições ambientais favoráveis, as fases de ovo à forma adulta podem ocorrer de 7 a 10 dias. Onde o inseto passa por uma metamorfose perfeita, ou seja, após a cópula (macho + fêmea) e a fecundação, onde as fêmeas precisam ingerir sangue para realizar o desenvolvimento completo dos ovos e maturação nos ovários, com isso o ovo eclode uma larva onde se nutre e desenvolve. A última transformação ocorre no momento da pupação, que a partir dela revela-se um adulto alado. Todos os estágios de larva e pupa ocorrem de forma aquática, conforme figura 3 (FIOCRUZ, 2019).

Figura 3 – Ciclo de vida do inseto *Aedes aegypti*.



Fonte: FIOCRUZ, 2019.

3.2 MÉTODOS DE CONTROLE E PROBLEMÁTICAS

O controle do *Aedes* tem gerado um persistente desafio, principalmente em países em desenvolvimento. Ainda que, verbas são continuamente destinadas ao combate do vetor, muitas vezes não se tem alcançado êxito (ZARA et al., 2016), tornando-se um relevante problema de saúde pública devido a ineficiência no seu controle referente a crescentes linhagens resistentes (VALLE, et al., 2015).

Segundo Farnesi (2013), “há três métodos fundamentais de controle do vetor *A. aegypti*, o mecânico que consiste na vistoria e retirada de água parada de recipientes, o biológico cujo organismos vivos são utilizados no combate do vetor e o químico (mais utilizado), onde substâncias químicas tóxicas são utilizadas”. Visto isso, a utilização de inseticidas químicos ainda é uma das prevalentes formas de controle, porém, tal prática não tem se revelado eficiente, contrariamente, o que se tem visto é o aumento da taxa de áreas infestadas pelo vetor, e a crescente resistência aos agentes químicos amplamente difundida em todo mundo (VALLE et al., 2015).

Os principais inseticidas aplicados no controle do *Aedes* são os neurotóxicos, divididos em algumas classes como os organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, aptos para atingir o sistema nervoso dos insetos. No entanto, agentes químicos convencionais como estes estão defasados, além de o controle positivo do vetor não pode derivar de um só método, pelo contrário, carece de outras alternativas, que possibilitem o enfrentamento de forma integrada e específica (BRAGA et al., 2007). Alternativas naturais com estudos químico-biológicos, como o manejo com óleo essenciais no enfrentamento ao *Aedes aegypti*, estão se mostrando cada vez mais eficazes, indicando diversas inovações de controle (ZARA et al., 2016).

Silva et al., (2020) destaca os riscos do uso do inseticida químico (Malathion) comumente utilizado no combate de *A. aegypti*, na saúde humana, visto que na classificação da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) este agente é definido como provável carcinogênico em humanos, no meio ambiente exibe contaminação ambiental resultante da destinação inadequada dos resíduos e sobras das soluções e da água de lavagem e destaca também alternativas biotecnológicas. O desenvolvimento de fitoprodutos como óleos essenciais é uma excelente forma de combate natural, não apresentando toxicidade relevante para mamíferos (SILVÉRIO et al., 2020), nem alterações e perturbações ambientais (ZARA et al., 2016).

3.3 NOVAS PERSPECTIVAS DE COMBATE AO *A. aegypti* NO BIOMA CAATINGA

Deste modo, destaca-se a importância da aplicação racional e sustentável de matérias naturais. Com o processo evolutivo das plantas, desenvolveram estratégias de proteção, onde metabólitos secundários tem relação direta com este desenvolvimento (MARTINS et al., 2005), podendo agir como inibidores de nutrimento de insetos, ou até impossibilitar o crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento, além de também serem capazes de apresentar toxicidade sobre o sistema nervoso central dos invertebrados (MENEZES, 2005). Inseticidas naturais tendem a apresentar baixa ou nula poluição ambiental, baixa presença de resíduos tóxicos, maior seletividade, menor resistência, além de infinitudes de possibilidades, como o sinergismos e potencialização com outras substâncias (CORREA & SALGADO, 2011).

A aplicação de plantas e produtos produzidos a partir de seus constituintes, como extratos e óleos essenciais, contra culicídeos tem crescido nos países

industrializados (ACIOLE et al., 2009), incluindo o Brasil, visto que é um país megadiverso, esta linha de estudo vem se desenvolvendo amplamente, mais exclusivo ainda, o bioma Caatinga por apresentar uma alta incidência de radiações UV sobre as plantas, seus metabólitos secundários são consideravelmente aumentados, para melhor adaptação e sobrevivência ao ambiente (CHAVES et al., 2012). No entanto, a Caatinga ainda é pouco reconhecida mesmo com tanta potencialidade, desta forma, estudos de condições de sobrevivência atrelados a composição química é de fundamental relevância em plantas com finalidade farmacológica, fitoterápicos, fitossanitários, fitocosméticos e afins (ARAÚJO et al., 2014).

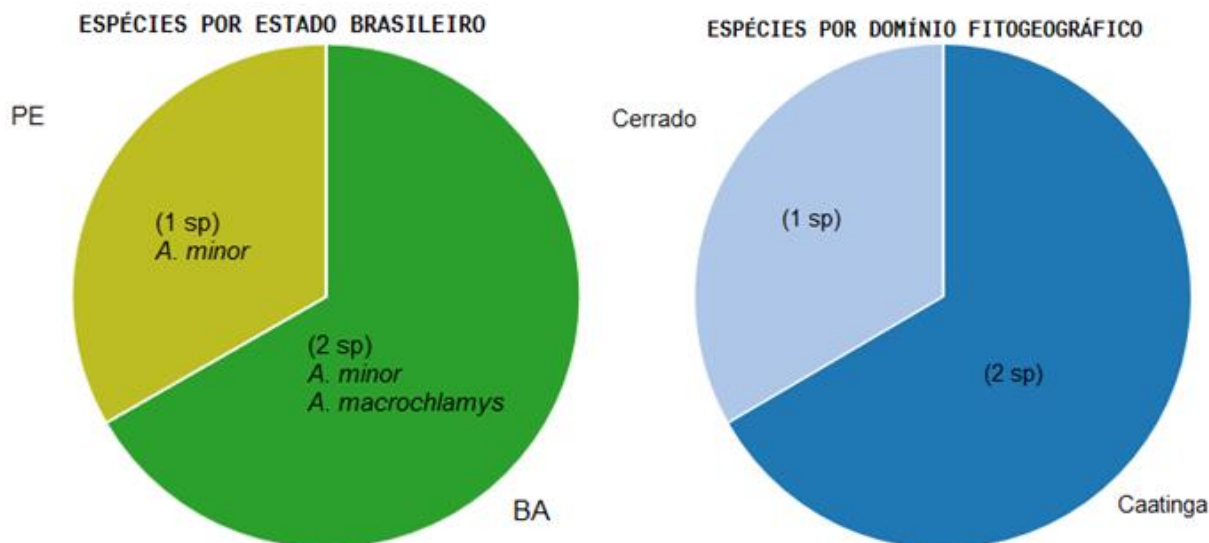
Como outro caminho a ser trilhado, os óleos essenciais de plantas, têm sido pesquisados para verificação de atividade larvica contra *A. aegypti*, onde características dos constituintes ou a combinação dos mesmos podem atentar um aumento ou redução da atividade biológica (PEREIRA et al., 2014). Tendo em vista, que é crucial e urgente o desenvolvimento de inseticidas eficazes e seguros para a população e para o meio ambiente (SANTOS et al., 2010), os OE possuem biomoléculas com atividades particulares, complexidade de composição, diminuindo assim os riscos de resistência e reduz o dano ambiental (MERCÊS, 2015)

Dessa forma, pelo fato de muitas plantas, por natureza, serem tóxicas para mosquitos, sendo os OE misturas complexas de substâncias, podem representar uma saída eficiente para um dos principais problemas de saúde do mundo (PEREIRA et al., 2014). A família Myrtaceae vem sendo reconhecida referente à composição química de suas espécies e atividades biológicas (ACIOLE, 2009), em especial, bioatividade larvica, como por exemplo os gêneros *Eucalyptus* e *Pimenta* (SANTOS, 2021; CHENG et al., 2008).

3.4 *Algrizea minor*: INEDITISMO E POTENCIALIDADE

O gênero *Algrizea* é endêmico do Nordeste Brasileiro, sendo a distribuição geográfica apenas na Bahia e Pernambuco, e domínio fitogeográfico no Cerrado e Caatinga (Gráfico 1 e 2), ocorrendo geralmente em ambientes de grandes altitudes e na maioria das vezes sob rochas. Apresenta apenas duas espécies: *Algrizea macrochlamys* (DC.) Proença & NicLugh e *Algrizea minor* Sobral et al., recentemente descrita (SOBRAL, et al., 2015).

Gráfico 2 e 3 - Espécies por estado brasileiro e espécies por domínio fitogeográfico.



Fonte: Stadnik, A.; Proença, C.E.B. 2020. *Algrizea* em Flora do Brasil - Algas Fungos e Plantas;

Na literatura poucos são os relatos das atividades biológicas do óleo essencial de *A. minor* (Figura 4), dentre eles o de Veras et al. (2019) no qual avaliou a composição do óleo essencial tendo como majoritários β -pineno, α -pineno, germacreno D, biciclogermacreno, (E)-Cariofileno e Limoneno, sendo amplamente descrito como agente inseticida, ovicida, larvicida, indicando um potencial deste óleo essencial (NAVARRO et al., 2013; SILVA et al., 2015). Esses compostos têm sido relatados como potentes inseticidas naturais, como os óleos obtidos das espécies *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* e *Cinnamomum zeylanicum* (PRAJAPATI et al. 2005; DUARTE 2015; AGUIRRE et al., 2016). Demais atividades biológicas associadas a *A. minor* não dispõem-se na literatura consultada, revelando o ineditismo no estudo.

Figura 2 - *Algrizea minor*.



Fonte: Autor, 2020.

Diante da problemática mundial, a adesão de estratégias específicas, com melhores aplicações em técnicas apropriadas, que ofereçam sustentabilidade às intervenções planejadas, além da eficiência e segurança, é primordial para a mudança do cenário de dificuldade e enfrentamento ao *A. aegypti* (ZARA et al., 2016).

4.0 METODOLOGIA

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O material botânico (folhas de *Algrizea minor*) foi coletado no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil, localizado na latitude 8°36'35''(S) e longitude 37°14'40''(W), posteriormente o material foi analisado e depositado no herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), cujo voucher está registrado sob a numeração PEUFR35193.

4.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo foi obtido pela técnica de hidrodestilação em aparelho de Clevenger (VERAS et al., 2019). As folhas passaram por separação mecânica, retirando as que apresentam marcas de pragas ou microrganismos, em seguida, foram submetidas à lavagem e trituração em moinho de facas. O processo foi realizado por 3 horas, utilizando-se 300g do material triturado, foi adicionado ao balão de hidrodestilação com água na proporção de 1:10 (m/v). O óleo essencial obtido através da sua condensação foi posteriormente tratado com agente secante sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) para remoção de toda a água. O óleo foi armazenado num frasco previamente limpo, seco sob refrigeração a -4°C ao abrigo da luz para posteriores ensaios biológicos. O cálculo do rendimento foi expresso através da razão entre a massa do material vegetal seco e a massa do óleo essencial obtido.

4.3 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

As identificações dos componentes dos óleos essenciais foram realizadas em Agilent 5975C (Series GC/MSD), equipado com coluna DB-5, seguindo as condições cromatográficas descritas por Silva et al (2020) e Veras et al (2020). As análises quantitativas foram feitas nas mesmas condições das descritas para o GC-MS em um equipamento Thermo TraceGC Ultra, equipado com uma coluna VB-5 e um detector tipo DIC a 250°C. As identificações feitas por CG-EM foram feitas comparando-se os espectros de massa obtidos pelo equipamento com os das bibliotecas do equipamento (MassFinder 4, Dr. Hochmuth scientific consulting, Hamburg, Germany); NIST08 Mass Spectral Library (ChemSW Inc. Fairfield, CA, USA); Wiley Registry™ of Mass Spectral Data 9th Edition (Wiley, Hoboken, NJ, USA). Comparou-se também com os espectros publicados por Adams, 2007 e seus

índices de retenção calculados por co-injeção da amostra dos óleos essenciais com solução de padrões de hidrocarboneto C9–C30, calculados pela equação de Van den Dool and Kratz (1963). As quantificações em CG foram feitas em triplicata para obtenção de desvio padrão.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA COM ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *A. minor*

4.4.1 Insetos

Foram utilizados insetos pertencentes à linhagem Rockefeller. A criação foi realizada em sala com temperatura mantida entre 25 e 27°C e entre 75 a 80% de umidade, com um fotoperíodo de 12: 12 claro-escuro (MONTE et al., 2020).

4.4.2 Atividade larvicida

A atividade larvicida foi avaliada de acordo com a metodologia de Navarro et al. (2013). O OE foi diluído em água com auxílio de gotas do co-solvente Tween 80, destilada em diferentes concentrações para determinação da LC₅₀, sendo utilizado água destilada como controle negativo. Foram utilizadas 20 larvas em cada uma das concentrações analisadas, em estágio L4, sendo a taxa de mortalidade (%) determinada após 48 h de incubação a 25–27°C. Todos os experimentos realizados em triplicatas independentes. As larvas são consideradas mortas quando não mais apresentam resposta a estímulos (SANTOS et al., 2017).

4.4.3 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram expressos na forma de média $\pm$ desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA). A análise comparativa dos resultados foi realizada por meio do teste de Tukey com nível de significância de 95%, utilizando o programa estatístico Statistic® versão 9.0 (MONTE et al., 2020).

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *A. minor* E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

Vale destacar que o gênero *Algrizea*, foi recentemente descrito, no ano de 2006, na Chapada da Diamantina, onde possui apenas duas espécies *Algrizea minor* Sobral, Faria & Proença, e *Algrizea macrochlamys* Proença & NicLugh, anteriormente só estudada e encontrada na Bahia, seguidamente foram observadas populações de *Algrizea minor* no interior de Pernambuco, mais precisamente no Parque Nacional do Catimbau. O estado brasileiro da Bahia e de Pernambuco tem uma ampla variedade de fitofisionomias associadas à diversidade climática e topográfica, aliada ao fato de que dentro de suas fronteiras, a Floresta Atlântica, Caatinga e Cerrado se encontram. Resultando em uma grande diversidade, que também está associada a um alto grau de endemismo (GIULIETTI et al. 2006).

O óleo essencial obtido por hidrodestilação das folhas de *Algrizea minor*, apresentou um rendimento de 0,57% considerando a razão entre a massa do material vegetal sem umidade e a massa do OE. Comparando-a com outras espécies da família Myrtaceae, como *Plinia Rivularis* (SANTOS et al, 2019) , *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC (FILHO et al, 2020), e *Eugenia stipitata* McVaugh (COSTA, 2019) que obtiveram o rendimento respectivamente de 0,29%, 0,07% e 0,73%, sendo assim, o valor apresentado por *A. minor* é moderado. Segundo Raposo et al (2018) a sazonalidade, o ritmo circadiano e fatores ambientais como incidência solar, pluviosidade e posicionamento podem interferir no rendimento e composição química dos óleos essenciais, visto que estes são metabólitos secundários produzidos pelas plantas.

De acordo com a Tabela 1, a caracterização química dos componentes do OE por CG/MS, foram identificados 15 compostos, correspondendo a 95,9% da amostra analisada. Sendo os principais constituintes presentes no óleo: tratando-se do componente majoritário, o β -Pineno ($66,99 \pm 0,03\%$), Bicyclogermacreno ($6,26 \pm 0,42\%$), α -Pineno ($6,57 \pm 0,26\%$), Germacreno D ($5,97 \pm 0,19\%$), (E)-Cariofileno ($3,76 \pm 0,31\%$) e α -Humuleno ($1,42 \pm 0,01\%$). Os monoterpenos de hidrocarbonetos (MH) representam 75.50% dessa fração, outro em quantidade expressiva são os

sesquiterpenos de hidrocarbonetos (SH) apresentando 19,39%, e em menores proporções os monoterpenos oxigenados (MO) e os sesquiterpenos oxigenados (SO).

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial da *A. minor*.

No.	Compostos	RI Cal	RI Lit	EOAm	
				(%)	S.D.
1	(E)-cariofileno	1417	1417	3.76	0.31
2	Aromadendrene	1439	1439	0.99	0.04
3	α-Humuleno	1452	1452	1.42	0.01
4	Allo-aromadendrene	1458	1458	1.31	0.03
5	Germacrene-D	1480	1480	5.97	0.19
6	Biciclogermacrene	1500	1500	6.26	0.42
7	δ -Cadinene	1522	1522	0.21	0.06
8	Spathulenol	1577	1577	0.13	0.06
9	α -Thujene	929	924	0.39	0.02
10	α-Pineno	936	932	6.57	0.26
11	β-Pineno	977	974	66.99	0.03
12	Mirceno	993	988	0.44	0.05
13	Limoneno	1030	1024	1.11	0.03
14	Terpinen-4-ol	1179	1178	0.01	0.00
15	Guaiol	1600	1600	0.34	0.03
TOTAL (%)				95.9	
Monoterpenos de hidrocarbonetos (MH)				75.50	
Monoterpenos oxigenados (MO)				0.01	
Sesquiterpenos de hidrocarbonetos (SH)				19.39	
Sesquiterpenos oxigenados (SO)				0.34	
TOTAL (%)				95.9	

Tabela 1. ^aIRexp = Índice de retenção experimental; ^bIRlit = Índice de retenção descrito na literatura (ADAMS, 2007).

O β -pineno ($C_{10}H_{16}$) é um monoterpeno cíclico, pouco solúvel em água, é conhecido na literatura por ser um composto presente em vários óleos essenciais, de diferentes tecidos vegetais. Também apresentou diversificadas atividades biológicas, como antioxidante, antimicrobiana, antiespasmódica, antiinflamatória, além de estar abundantemente presente em óleos essenciais com atividade larvicida comprovada, como por exemplo o óleo essencial de limão tanja/limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) que apresentou como um dos compostos majoritários o β -pineno,

onde, no estudo apresenta melhor potencial larvicida comparado às outras espécies de *Citrus* (SOUSA, 2019).

Quanto ao α -Pineno ($C_{10}H_{16}$) também é um monoterpeno cíclico, abundante no domínio vegetal, sendo um dos principais constituintes de várias plantas com atividades biológicas como carrapaticida, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica e também está diretamente ligado aos óleos essenciais com potenciais larvicidas. Em um estudo realizado por Trindade et al. (2020) foi analisado como composto majoritário da planta *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) o α -Pineno com 18,61% da fração, e avaliou boa atividade antibacteriana e antifúngica do OE. Segundo Macedo et al. (2009) no estudo de larvicida e ovicida da espécie *Eucalyptus globulus* pela análise obtida por cromatografia gasosa indicou α -Pineno como um dos principais constituintes do OE estudado, apresentando assim, no teste de desenvolvimento larval, na concentração de 21,75 mg.mL⁻¹, o OEEG inibiu em 90,96%, e no teste de eclosão de ovos, na concentração de 17,4 mg.mL⁻¹ apresentou 87,3% de eficácia.

Muito se evidencia a possível potencialidade da atividade sinérgica destes dois compostos α - e β -pineno, que, segundo SOUSA (2019), quando juntos são destacados como responsáveis pela ação larvicida de OE.

O gênero *Algrizea* pouco tempo atrás descrito por Proença & NicLugh., é pouco conhecido e só se tem informações sobre constituição química da sp *Algrizea minor* apresentado por VERAS et al. (2019) revelando o componente majoritário β -pineno.

5.2 ATIVIDADE LARVICIDA

Algumas classificações sobre a atividade larvicida estão disponíveis na literatura. Compostos, óleos essenciais ou extratos vegetais que apresentem atividades larvicidas numa faixa de concentração de LC₅₀ entre 50 e 100 µg/ml são considerados ativos e os que apresentam LC₅₀ inferior a 50 µg/ml são considerados altamente ativos (CHENG, 2003; SILVÉRIO et al., 2020). Assim o óleo essencial da folha de *A. minor* exibiu uma atividade larvicida moderada, LC₅₀ igual a 60,76±2,60 ppm, contra larvas de *Aedes aegypti* no estado larval L4, em que foi observada mortalidade desde as menores soluções do óleo realizadas no teste. A faixa de mortalidade testada encontra-se num intervalo de concentração de 30 a 90 ppm

Os dados estatísticos para os ensaios larvicidas podem ser observados na Tabela 2 o LC₅₀ foi de 60,76 ppm, o desvio padrão é de 2,60, sendo o limite de

confiança 95%, o X^2 que representa a similaridade das curvas de sobrevivência experimental e teórica o p-value de 0,95 e N (número de graus de liberdade) = 4.

Tabela 2 - Dados estatísticos obtidos no teste larvídica

Lc50	Desvio padrão	Limite de confiança	X^2	P-value	N graus de liberdade
60,76 ppm	2,60	95%	0,68	0,95	4

Este valor referente ao LC₅₀ da atividade do OE de *A. minor*, é semelhante ao relatado para atividades larvicidas do óleos essenciais de *Psidium rotundatum*, também da família Myrtaceae, que obteve LC₅₀ = 63 ppm e *Eugenia melanadenia* LC₅₀ = 85 ppm (MORA et al. 2010), e inferior ao teste biológico onde mostrou que a porcentagem de mortalidade larval causada pelo OE de *Eugenia candolleana* (Myrtaceae) atingiu 100% após 24h de tratamento, numa concentração de 0,50, obtendo o LC₅₀ = 300 ppm (NEVES et al. 2017).

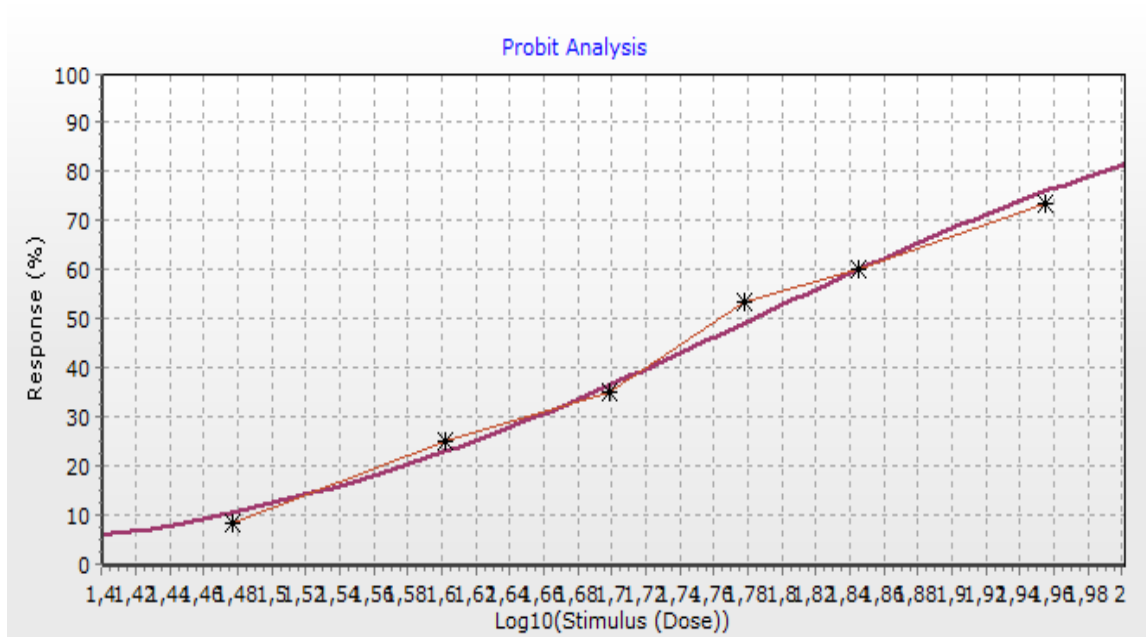
Segundo Sousa (2020) relatou que os OEs mais indicados que mostram efeitos tóxicos contra *A. aegypti* são da família Myrtaceae, *Melaleuca linariifolia*, *Melaleuca dissitiflora*, *Melaleuca quinquenervia* e *Eucalyptus globulus* o que nos mostra, o quanto a mesma está associada a atividade larvídica, estando diretamente relacionada à presença de constituintes químicos majoritários comuns entre as espécies desta família, como por exemplo *Eugenia brejoensis*, *E. caryophyllata* que apresentam várias semelhanças pela abundância de monoterpenos como o α - e β -pineno e de sesquiterpenos como o β -cariofileno (SILVA et al. 2015).

O gênero *Algrizea*, recentemente descrito, é pouco conhecido pela literatura, apresentando apenas duas espécies *Algrizea macrochlamys* (DC.) Proença & NicLugh e a mais recente: *Algrizea minor* Sobral, Faria Júnior & Proença. Na atual literatura Veras et al. (2019) identificaram algumas atividades biológicas de *Algrizea minor* como antimicrobiana, antinoceptiva e antioxidante. Este é o primeiro trabalho demonstrando o potencial larvídica de *A. minor*.

O Gráfico 4 a seguir é referente a curva de sobrevivência do Probit, a linha vermelha mais escura representa a mortalidade teórica das larvas do *Aedes aegypti* de modo teórico baseado nos dados fornecidos. Quanto a linha vermelha mais clara,

representa os resultados experimentais da mortalidade das larvas do *A. aegypti* para o teste larvídica, onde os asteriscos representam as concentrações utilizadas para determinar a LC50 nessa faixa. O valor de X^2 demonstra uma ótima similaridade entre as curvas teórica e experimental.

Gráfico 4 - Gráfico de análise de sobrevivência do probit.



G4: (linha de regressão (prevista) — pontos experimentais *)

6.0 CONCLUSÃO

A caracterização química da fração do óleo essencial de *A. minor* constituída predominantemente por monoterpenos de hidrocarbonetos se destacou com composto majoritário o β -Pineno ($66,99 \pm 0,03\%$), como descrito na literatura está relacionado a diversas atividades biológicas, no entanto, variados OEs com a prevalência deste composto têm estudos comprovados quanto a sua potencialidade larvícida. Apontando assim, como um dos responsáveis pela atividade inseticida.

Deste modo, os resultados obtidos sugerem que o OE da folha de *A. minor* traz boas perspectivas como larvícida contra larvas de *A. aegypti*. Ressaltando que este é o primeiro trabalho a analisar atividades biológicas inseticidas de *A. minor*.

A utilização de compostos vegetais, principalmente advindos do bioma Caatinga, na qual apresenta poucas pesquisas diante da vasta potencialidade florística, no combate de vetores, é um solo fértil, revelando consideráveis vantagens e impactos positivos, como por exemplo pouco tempo para sua degradação, encurtando assim as possibilidades de continuidade na natureza e envenenamento aos outros seres vivos não alvos, e principalmente a menor taxa de desenvolvimento de resistência pelos alvos. Além disso, esses resultados poderiam ser úteis na busca por compostos naturais larvicidas mais seletivos.

A espécie *A. minor* tem potencialidade inseticida frente ao *Aedes aegypti* de acordo com resultados apresentados neste trabalho. Sendo a atividade biológica larvícida inédita e apresentando bons resultados, pode-se ainda ser vinculada a complexos que aumentem sua potencialidade.

Destaca-se a importância da aplicação racional e sustentável de matérias naturais.

REFERÊNCIAS

- ACIOLE, Sullamy Dayse Gomes. **Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**, 2009. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas. Universidade de Lisboa, 2009. Disponível em: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/1418/1/20478_ulfc080628_tm.pdf
- AGUIRRE, C. E. D. et al. Efeito e atividade inseticida de Cinnamomum zeylanicum E Rosmarinus officinalis sobre Helicoverpa armigera Hübner, 1908 (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 465-465, 2016. DOI: <https://doi.org/10.18066/revistaunivap.v22i40.1047>
- ARAÚJO, Laís Lima Nabuco et al. **Características morfofisiológicas, produção e composição de óleo essencial em folhas de Tetradenia riparia (Hochst) Codd-Lamiaceae cultivada em diferentes níveis de sombreamento**, 2014. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Goiás, Estado de Goiás, 2014. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3265>
- Bhatt, S., Gething, P., Brady, O. et al. A distribuição global e a carga da dengue. **Nature** 496, 504–507 (2013). <https://doi.org/10.1038/nature12060>
- BRAGA, I. A., VALLE, D. Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Repositório Institucional da Fiocruz (ARCA)** - Epidemiol. Serv. Saúde v.16 n.4 Brasília dez. 2007. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18453>
- CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Med.** v. 47. n.2, p.219-237, 2010
- Casos de dengue nas Américas chegam a 1,6 milhão, o que destaca a necessidade do controle de mosquitos durante a pandemia. Organização **Pan Americana da Saúde (OPAS)**, 2020.
- CHAVES, Thiago Pereira et al. **Variação sazonal na produção de metabólitos secundários e na atividade antimicrobiana de espécies vegetais do semiárido brasileiro**. 2012. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, Estado da Paraíba, 2012. Disponível em: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/1879>
- CONSOLI, R. A.G.B; OLIVEIRA, R.L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Reimpressão. Rio de Janeiro: **Fiocruz**, 1998. p. 228. ISBN 85-85676-03-5. DOI: <https://doi.org/10.7476/9788575412909>
- CORRÊA, J. C R., SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. bras. plantas med.** v.13, n.4, p.500-506, 2011.
- COSTA, Wêndeo Kennedy. **Composição química e bioatividade do óleo essencial de Eugenia stipitata mcvaugh. MS thesis**. Universidade Federal de Pernambuco, 2019. Tese (Mestrado), Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Estado de Pernambuco, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/34384>
- DE MENEZES FILHO, Antonio Carlos Pereira et al. Composição química do óleo essencial das flores de Myrcia guianensis (Aubl.) DC. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 4, 2020.
- Donalisio MR, Freitas ARR, Zuben APB Von. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Rev Saúde Pública**, 2017; 31(30):10-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2017051006889>

DOS SANTOS, M. V. O. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Plinia rivularis* (Myrtaceae) de Mato Grosso do Sul. In: ENCONTRO DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO: PESQUISA E TECNOLOGIA: AÇÕES PARA UM FUTURO SUSTENTÁVEL, 13., 2019, Mato Grosso do Sul. **ANAIS DO ENIC**, n. 11, 2019.

DUARTE, Jonatas L. et al. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 189-192, 2015.

FARNESI. L., VALLE. D. Introdução aos Aspectos Científicos do Vetor - Estratégias de controle do Vetor, **Instituto Oswaldo Cruz**, mod 5.

Gould E, Pettersson J, Higgs S, Charrel R, de Lamballerie X. Emerging arboviruses: why today? *One Heal.* **One Health** v. 4, p. 1-13, (June), 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2017.06.001>

LIMA, L. P., et al., *Aedes aegypti* e doenças relacionadas: Uma revisão histórica e biológica. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** p. 3429, 2021 DOI: 10.34188/bjaerv4n3-050

MACEDO, I. T. F. et al. Atividade ovicida e larvica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 62-66, (jul.-set). 2009.

MENEZES, E.L.A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: **Embrapa Agrobiologia**, 2005. 58p.

MERCÊS, Paula Fernanda Figueiredo das. **Variação da composição química e da atividade antifitopatogênica dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* (Fabaceae) coletadas em área de extrema importância biológica para a conservação.** 2015. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/16958>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue: sintomas, causas, tratamento e prevenção.** 2019.

MORA, F. D. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Eugenia triquetra* Essential Oil from Venezuelan Andes. **Natural Product Communications** Vol. 5 (6) 2010. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500633>

NAVARRO, D.M.A.F.; SILVA, P.C.B.; SILVA, M.F.R.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Larvicidal activity of plant and algae extracts, essential oils and isolated chemical constituents the against *Aedes aegypti*. **Natl Prod J.** v. 3, p.268-291, 2013.

NEVES, I. A. et al, Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil of *Eugenia candolleana* DC. (MYRTACEAE) against *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, 9 (6), 2305-2315. 2017. DOI: 10.21577/1984-6835.20170138

Epidemiological Update: Arboviruses in the context of COVID-19 - 2. **Pan American Health Organization**, (July) 2021

PEREIRA, A. I. S., PEREIRA, A. G.S., SOBRINHO, O. P. L., CATANHEDE, E. K. P., SIQUEIRA, L. F. S. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. **Educação Química**, Vol. 25. Num. 4, pág 446-449, 2014

POMBO, P. M. M. ***Aedes aegypti*: morfologia, morfometria do ovo, desenvolvimento embrionário e aspectos relacionados à vigilância entomológica no Município de São**

Paulo, 2016. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2016. DOI: 10.11606/T.10.2017.tde-20032017-183203

PRAJAPATI, Veena et al. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource technology**, v. 96, n. 16, p. 1749-1757, 2005.

RIBEIRO, Ana Luiza Neis. **Análise das políticas públicas de combate à dengue**. 2013. Tese (Monografia) - Curso de Ciências Contábeis, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/14508/TCCE_GPM_EaD_2013_RIBEIRO_ANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

RAPOSO, J. D.A. et al. Seasonal and circadian study of the essential oil of *Myrcia sylvatica* (G. Mey) DC., a valuable aromatic species occurring in the Lower Amazon River region. **Biochemical Systematics and Ecology**. V. 79, p. 219-29. 2018.

SANTOS, Sandra Regina Lima. **Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao *Aedes aegypti***. 2014. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2014. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/3956>

Santos SR, Silva VB, Melo MA, Barbosa JD, Santos RL, Sousa DP, et al. Toxic on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes, and related compounds in *Aedes aegypti* larvae. **Vector Borne Zoonotic Dis**, dez;10(10):1049–54, 2010. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0158>

SANTOS, A. E. Importância química e biológica dos óleos voláteis de espécies do gênero *Eucalyptus*. **Scientia Naturalis**, Vol. 3 Num 1, 2021

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R.. *In*: Biodiversidade do Brasil. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SILVA, C. P.; SAKAMOTO, G. K. D.; PONTES, M. P.; VIEIRA, R. R.; NATAL, J. P. S.; CONTE, H.. Os riscos ambientais no Brasil devido ao uso do defensivo Malathion Emulsão Aquosa - EA 44% no controle de *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762) (díptera; culicidae): uma revisão. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.11, n.6, p.638-646, 2020.

SILVA, A.G. et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from leaves of *Eugenia brejoensis* Mazine (Myrtaceae). *J. Essent Oil Bear Plants*, v.18, p. 1441-1447, 2015.

SILVÉRIO, M. R. S., VESPINDOLA, L. S., LOPES, N. P., VIERA, P. C. Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. **Molecules**, 25, 3484, 2020.

SILVA, A. G. et al. Composição Química e Atividade Larvicida do Óleo Essencial de Folhas de *Eugenia brejoensis* Mazine (Myrtaceae), **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 18: 6, 1441-1447, 2015.

SOUSA, Dionney Andrade de. **Avaliação da atividade larvicida de óleos essenciais de espécies de citrus frente às larvas de *Aedes aegypti***. Tese (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2019. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/tede/2997>

SOUZA, M. A. et al. Larvicidal Activity of Essential Oils Against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) **Current Pharmaceutical Design**, 26, 4092-4111.2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200806100500>

FEBRE AMARELA - INFORMATIVO PARA PROFISSIONAIS DE SAÚDE. **SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA**, 2017.

Stadnik, A.; Proença, C.E.B. 2020. *Algrizea in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB36819>>. Acesso em: 17 nov. 2021

Spadotto, Claudio A. et al. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações - Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2004.

TRINDADE, Janaína Kiara Miranda et al. Perfil químico e atividade antimicrobiana do óleo essencial de variedades de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e211101018794-e211101018794, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18794>

TRANCOSO, Marcelo Delena. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, v. 5, n. 9, 2013. DOI: <https://doi.org/10.25119/praxis-5-9-609>

VALLE, Denise; BELINATO, Thiago Affonso; MARTINS, A. de J. Controle químico de *Aedes aegypti*, resistência a inseticidas e alternativas. **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 93-126, 2015.

VALLE, D., PIMENTA, D. N., and CUNHA, R. V. **Dengue: teorias e práticas [online]**. Rio de Janeiro. Editora: Fiocruz, 450 p., 2015.

VERAS, B. O. et al. *Algrizea Minor* Sobral, Faria & Proença (Myrteae, Myrtaceae): chemical composition, antinociceptive, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil. **Natural Product Research**, 34:20, 3013-3017, 2019.

Zara, A. L. S. A., Santos, S. M., Fernandes Oliveira, E. S., Carvalho, R.G., & Coelho, G. E. 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti* : uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** 26(2), 391-404. DOI: <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>. CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Med.** v. 47. n.2, p.219-237, 2010

APÊNDICE A – Ficha larvica

Laboratório de Bioensaio (Insetário)

BIOENSAIO LARVICIDA

Espécie: A.M

Nome científico: _____

Extrato / Composto: _____

Solvente: _____



Concentração / estoque:

	Controle:
--	-----------

Pre liminar:

Data: ____ / ____ / ____ Hora: ____ / ____

Conc. []	V solução (mL)	V água (mL)	24 h	%	48 h	%
10	2 mL	18	20V/0M	0	18V/2M	10
50	10 mL	10	20V/0M	0	18V/2M	10
100	20 mL	0	20V/0M	0	18V/2M	10

Concentração / estoque:

	Controle:
--	-----------

Determinação de LC₅₀:

Data: ____ / ____ / ____ Hora: ____ / ____

Conc. []	V solução (mL)	V água (mL)	24 h	%	48 h	%
10	2	18	12V/8M	40	8V/12M	60
50	10	10	20V/0M	0	16V/4M	20
100	20	0	3V/17M	85	2V/18M	90
90	0,0018 g	20	8V/12M	60	5V/15M	75
80	0,0016 g	20	12V/8M	40	10V/10M	50
70	0,0014 g	20	7V/13M	65	5V/15M	75
60	0,0012 g	20	13V/7M	35	11V/9M	45
50	0,0010 g	20	17V/3M	15	13V/7M	35

Determinação de LC₅₀:

Data: ____ / ____ / ____ Hora: ____ / ____

Determinação de LC₅₀:

Data: ____ / ____ / ____ Hora: ____ / ____

Conc. []	V solução (mL)	V água (mL)	24 h	%	48 h	%
90	0,0018 g		8V/12M	60	7V/13M	65
80	0,0016 g		9V/11M	55	8V/12M	60
70	0,0014 g		10V/10M	50	9V/11M	55
60	0,0012 g		13V/7M	35	10V/10M	50
50	0,0010 g		18V/2M	10	15V/5M	25
90	0,0018 g		6V/14M	70	4V/16M	80
80	0,0016 g		7V/13M	65	6V/14M	70
70	0,0014 g		12V/8M	40	10V/10M	50
60	0,0012 g		15V/5M	25	13V/7M	35
50	0,0010 g		12V/8M	40	8V/12M	60
					/	

			/		/	
			/		/	
			/		/	

Determinação de LC₅₀:

Data: ____/____/____ Hora: ____/____

Conc. []	V _{solução} (mL)	V _{água} (mL)	24 h	%	48 h	%
30			20V/0M	0	18V/2M	10
30			20V/0M	0	18V/2M	10
30			20V/0M	0	19V/1M	5
40			18V/2M	10	15V/5M	25
40			15V/5M	25	13V/7M	35
40			18V/2M	10	17V/3M	15
40			19V/1M	5	19V/1M	5
50			17V/3M	15	17V/3M	15
60			16V/4M	20	16V/4M	20
40			17V/3M	15	16V/4M	20
50			20V/0M	0	19V/1M	5
60			16V/4M	20	14V/6M	30

LC₅₀:

Concentração	Larvas vivas	Larvas mortas	Total de larvas
30	55	5	60
40	45	15	60
50	39	21	60
60	28	32	60
70	24	36	60
90	16	44	60

LC₅₀: _60,76_ LC₁₀: _____ LC₉₀: _____ Erro padrão: 2,60_____Limite de confiança: 95%_____ χ^2 : _0,68_ p -value:0,95_ N:4_

Alpha (significance level)	0.0010						
Probit Analysis - Finney Method [Lognormal Distribution]							
Log10[Dose (Stimulus)]	Actual Percent (%)	Probit Percent (%)	N	R	E(R)	Difference	Chi-square
1.4771	0.0833	0.1042	60	5.0000	6.2538	-1.2538	0.2514
1.6021	0.2500	0.2281	60	15.0000	13.6868	1.3132	0.1260
1.6990	0.3500	0.3642	60	21.0000	21.8497	-0.8497	0.0330
1.7782	0.5333	0.4911	60	32.0000	29.4638	2.5362	0.2183
1.8451	0.6000	0.5996	60	36.0000	35.9767	0.0233	0.0000
1.9542	0.7333	0.7581	60	44.0000	45.4872	-1.4872	0.0486
Chi-square							
Chi-square	0.6773						
Degrees of Freedom	4						
p-value	0.9541						
Dose (Stimulus) Percentile #1							
Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2.6732	1.2166	0.0702	16.4682	2.6737	11.1535	21.0190
5	3.3548	1.3827	0.0499	24.1393	2.7772	18.3369	28.7579
10	3.7183	1.4713	0.0394	29.6002	2.6918	23.8571	34.0581
16	4.0056	1.5413	0.0317	34.7777	2.5395	29.3102	39.0143
20	4.1585	1.5786	0.0279	37.8943	2.4329	32.6599	41.9991
25	4.3258	1.6193	0.0241	41.6228	2.3096	36.6960	45.6076
30	4.4760	1.6559	0.0212	45.2822	2.2146	40.6447	49.2300
40	4.7471	1.7220	0.0181	52.7203	2.2036	48.4236	57.0420
50	5.0000	1.7836	0.0186	60.7589	2.6036	56.1676	66.4379
60	5.2529	1.8452	0.0221	70.0231	3.5653	64.2619	78.4510
70	5.5240	1.9113	0.0279	81.5253	5.2484	73.5399	94.5340
75	5.6742	1.9479	0.0317	88.6928	6.4786	79.0591	105.2437
80	5.8415	1.9886	0.0361	97.4195	8.1162	85.5933	118.6065

Dose (Stimulus) Percentile #1							
Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2.6732	1.2166	0.0702	16.4682	2.6737	11.1535	21.0190
5	3.3548	1.3827	0.0499	24.1393	2.7772	18.3369	28.7579
10	3.7183	1.4713	0.0394	29.6002	2.6918	23.8571	34.0581
16	4.0056	1.5413	0.0317	34.7777	2.5395	29.3102	39.0143
20	4.1585	1.5786	0.0279	37.8943	2.4329	32.6599	41.9991
25	4.3258	1.6193	0.0241	41.6228	2.3096	36.6960	45.6076
30	4.4760	1.6559	0.0212	45.2822	2.2146	40.6447	49.2300
40	4.7471	1.7220	0.0181	52.7203	2.2036	48.4236	57.0420
50	5.0000	1.7836	0.0186	60.7589	2.6036	56.1676	66.4379
60	5.2529	1.8452	0.0221	70.0231	3.5653	64.2619	78.4510
70	5.5240	1.9113	0.0279	81.5253	5.2484	73.5399	94.6340
75	5.6742	1.9479	0.0317	88.6928	6.4786	79.0591	105.2437
80	5.8415	1.9886	0.0361	97.4195	8.1162	85.5933	118.6065
84	5.9944	2.0259	0.0404	106.1496	9.8820	91.9709	132.4069
90	6.2817	2.0959	0.0486	124.7171	13.9869	105.1281	163.0226
95	6.6452	2.1845	0.0593	152.9308	20.9608	124.3236	212.4058
99	7.3268	2.3506	0.0800	224.1675	41.5057	169.8909	349.6315
Regression Statistics							
LD50	60.7589	LD50 Standard Error	2.6036				
LD50 LCL	56.1676	LD50 UCL	66.4379				
Log10[LD50]	1.7836	Standard Error	0.0186				
Beta	4.1039	Intercept	-2.3198				
Beta Standard Error	0.4979						

Regression Statistics		
LD50	60.7589	LD50 Standard Error
LD50 LCL	56.1676	LD50 UCL
Log10[LD50]	1.7836	Standard Error
Beta	4.1039	Intercept
Beta Standard Error	0.4979	

