



**ANA ALICE DAMASCENO PEREIRA**

**TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia Pyriformis*  
SOBRE LARVAS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (DIPTERA:  
CULICIDAE)**

**LAVRAS-MG  
2023**

**ANA ALICE DAMASCENO PEREIRA**

**TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia Pyriformis*  
SOBRE LARVAS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (DIPTERA:  
CULICIDAE)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof (a). Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante  
Orientadora

Msc. Pedro Henrique de Castro  
Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2022**

ANA ALICE DAMASCENO PEREIRA

**TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia Pyriformis*  
SOBRE LARVAS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)**

**TOXICITY OF ESSENTIAL OIL OF *Eugenia pyriformis* ON  
*Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) LARVAE.**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em \_26\_ de \_\_\_julho\_\_\_ de  
2023

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante - UFLA

Msc. Pedro Henrique de Castro – UFLA

Msc. Ingrid Marciano Alvarenga – UFLA

Msc. Pedro Horta Andrade - UFMG

Prof (a). Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante  
Orientadora

Msc. Pedro Henrique de Castro  
Coorientador

LAVRAS-MG

2022

Dedico esse trabalho aos meus pais Zaida Maria Damasceno Pereira e Edison da Silva Pereira. Não poderia ter mais sorte por Deus ter escolhido vocês como meus pais.

Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com vocês.  
(Carl Sagan).

## AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata aos meus pais por todas as oportunidades que eles me proporcionaram ao longo da minha vida. Seu amor incondicional e dedicação fizeram com que eu pudesse crescer em um ambiente cheio de possibilidades. Agradeço por me apoiarem em minhas escolhas, por sempre fazerem de tudo para me proporcionar uma vida confortável e em que nunca me faltou nada. Minhas conquistas, desenvolvimento e aprendizado são frutos do apoio e dedicação que sempre me ofereceram.

Agradeço aos meus irmãos Marcus Vinicius e Edison Jr. por sempre demonstrarem apoio e disposição para me ajudar no que fosse preciso.

Gostaria de agradecer a minha orientadora Joziana Muniz de Paiva Barçante e coorientador Pedro Henrique de Castro, pelas oportunidades que me deram dentro da universidade, todo o aprendizado foi de uma riqueza que levarei para vida. O amor e dedicação que vocês têm pelo que fazem é inspirador.

A turma do Núcleo de Estudos de Parasitologia, apesar do breve período que estive presente, todas as experiências que tive foram incríveis, me levando a criar um afeto pela área de parasitologia. A dinâmica altruísta de todos é muito bonita, fico grata por ter feito parte do grupo, mesmo que por pouco tempo.

Aos meus amigos e colegas da universidade, tanto aos que ficaram ao meu lado quanto aos passageiros, por tornarem esses anos longe de casa mais felizes e menos estressantes.

Muito obrigada!

## RESUMO

O inseto *Aedes aegypti* é vetor de diversas doenças, incluindo Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika. O controle desse vetor tem sido principalmente realizado por meio do uso de inseticidas químicos, no entanto, esse método tem levado à seleção de populações resistentes. Em busca de uma alternativa ecologicamente correta, diversos estudos demonstraram que os óleos essenciais (OE) têm a capacidade de repelir indivíduos adultos e causar toxicidade em diferentes estágios de desenvolvimento do inseto. A planta *Eugenia pyriformis*, popularmente conhecida como Uvaia, tem sido objeto de diversos estudos que exploram o potencial de seu OE. Ante o exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos tóxicos do OE de *E. pyriformis* sobre *Aedes aegypti* em larvas de 3º estágio. Para isso foram utilizados insetos da linhagem Rockefeller mantidos no Laboratório de Biologia Parasitária II da Universidade Federal de Lavras. As plantas de Uvaia foram coletadas no município de Perdões, Minas Gerais, em três pontos diferentes. O OE foi extraído por meio da técnica de arraste a vapor no Horto de Plantas Medicinais da UFLA. A fim de avaliar a atividade do composto, foram conduzidos bioensaios padronizados pela Organização Mundial de Saúde com adaptações utilizando larvas do mosquito. O OE em diferentes concentrações (0,1; 0,05; 0,025; 0,01; 0,009; 0,007; 0,00625 e 0,00312) foi homogeneizado em um recipiente contendo 24 mL água e larvas de terceiro ínstar. Para análise estatística foi utilizado o software PoloPlus versão 2.0. O OE *E. pyriformis* induziu uma mortalidade de 100% das larvas na concentração mais alta testada, que foi de 4000 µg/mL. A DL50 calculada foi de 575,6 µg/mL. Esses resultados demonstraram que *E. pyriformis* tem um efeito tóxico sobre larvas de *A. aegypti*, uma vez que a porcentagem de mortalidade das larvas mostrou-se diretamente proporcional às concentrações de óleo essencial. Novos ensaios tornam-se necessários para avaliar a melhor concentração com otimização do OE.

**Palavras-chave:** Uvaia, Dengue, Arboviroses, Vetores, Controle

## ABSTRACT

The insect *Aedes aegypti* is a vector of several diseases, including Yellow Fever, Dengue, Chikungunya and Zika. The control of this vector has been mainly carried out through the use of chemical insecticides; however, this method has led to the selection of resistant populations. In search of an environmentally friendly alternative, several studies have shown that essential oils (EOs) have the ability to repel adult individuals and cause toxicity at different stages of insect development. The plant *Eugenia pyriformis*, popularly known as Uvaia, has been the subject of several studies that explore the potential of its EO. In view of the above, the objective of the present study was to evaluate the toxic effects of *E. pyriformis* EO on *Aedes aegypti* in 3rd stage larvae. For this purpose, insects of the Rockefeller strain kept in the Laboratory of Parasitic Biology II of the Federal University of Lavras were used. Uvaia plants were collected in the municipality of Perdões, Minas Gerais, at three different points. The EO was extracted using the vapor drag technique at the Medicinal Plants Garden of UFLA. In order to evaluate the activity of the compound, bioassays standardized by the World Health Organization were conducted with adaptations using mosquito larvae. The EO in different concentrations (0.1; 0.05; 0.025; 0.01; 0.009; 0.007; 0.00625 and 0.00312) was homogenized in a container containing 24 mL water and third-stage larvae. PoloPlus software version 2.0 was used for statistical analysis. *E. pyriformis* EO induced 100% larval mortality at the highest concentration tested, which was 4000 µg/mL. The calculated LD50 was 575.6 µg/mL. These results demonstrated that *E. pyriformis* has a toxic effect on *A. aegypti* larvae, since the percentage of larval mortality was directly proportional to the essential oil concentrations. New trials are necessary to evaluate the best concentration with optimization of the EO.

**Keywords:** Uvaia, Dengue, Arboviruses, Vectors, Control

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 - Ciclo biológico <i>Aedes aegypti</i> .....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 2 - Ovos <i>Aedes aegypti</i> .....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 3 - Larva de <i>Aedes aegypti</i>.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 4 - Pupa <i>Aedes aegypti</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 5 - <i>Aedes aegypti</i> adulto.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 6 - Recipiente e local onde os diferentes estágios do inseto eram mantidos .....</b>	<b>20</b>
<b>Figura 7 - Etapas para manutenção de colônias de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório .....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 8 - Localização do município de Perdões .....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 9 - Método de extração de óleo essencial por arraste a vapor .....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 10 - Preparo do óleo essencial para a diluição da concentração.....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 11 - Conversão das unidades de concentração .....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 12 - Experimento dentro da B.O.D.....</b>	<b>25</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>10</b>
2.1 Classificação .....	10
2.2 Biologia.....	10
2.3 Criadouro .....	14
2.4 Manutenção de colônia de <i>Aedes aegypti</i> .....	15
2.5 Óleo essencial .....	16
2.6 Características botânicas e óleo essencial da <i>Eugenia pyriformis</i> .....	18
<b>3 OBJETIVO.....</b>	<b>19</b>
3.1 Geral.....	19
3.2 Específico.....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
4.1 Obtenção e manutenção da colônia de <i>A. aegypti</i> .....	20
4.2 Obtenção do óleo essencial de <i>Eugenia pyriformis</i> .....	22
4.3 Bioensaio do efeito do óleo essencial sobre as larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	23
4.4 Análises estatísticas .....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Aedes aegypti* é um importante vetor de patógenos. Ele é originário das regiões tropicais e subtropicais, sendo encontrado principalmente em áreas urbanas e periurbanas. Tem uma grande importância em saúde pública, uma vez que é responsável pela transmissão de arbovírus causadores de doenças como a Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya. O controle de *A. aegypti* é de extrema importância para prevenir a propagação dessas doenças. Medidas de combate a esse inseto incluem eliminar recipientes que possam acumular água parada, como tampar caixas d'água, manter piscinas tratadas, eliminar pneus velhos e limpar calhas regularmente.

Outra medida é o uso de produtos sintéticos como os inseticidas, contudo estes podem levar à seleção de insetos resistentes a esses compostos. As medidas alternativas, como a utilização de óleos essenciais (OE) por exemplo, vêm ganhando força atualmente, isso porque esses compostos possuem substâncias tóxicas para os insetos de diferentes gêneros de insetos de importância médico-veterinária e agrícola. Além disso, também é ecologicamente correto e vantajoso tanto para o meio ambiente quanto para o controle de arboviroses.

Os OE são substâncias naturais extraídas de plantas, conhecidas por suas propriedades terapêuticas e aromáticas. Dessa forma, ao contrário de muitos produtos sintéticos que podem ser prejudiciais ao meio ambiente, os óleos essenciais têm a vantagem de serem produtos naturais. Sua utilização pode ajudar a reduzir o acúmulo de produtos químicos que são tóxicos para a natureza, diminuindo assim os impactos negativos no ecossistema.

*Eugenia pyriformis*, também conhecida como uvaia, é uma planta perene que desperta interesse nas indústrias farmacêutica, agrícola e biológica devido ao seu potencial medicinal, larvicida e inseticida. A uvaia possui propriedades terpênicas que apresentam efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, antibacterianos e antifúngicos, assim como o seu óleo essencial.

Dessa forma, a avaliação do efeito tóxico desses óleos essenciais, uma vez que pode se tornar uma alternativa de controle de *A. aegypti*, resultando em novas estratégias de prevenção das doenças transmitidas por esse inseto, além de ser uma opção mais ecológica, prejudicando menos o meio ambiente.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Classificação

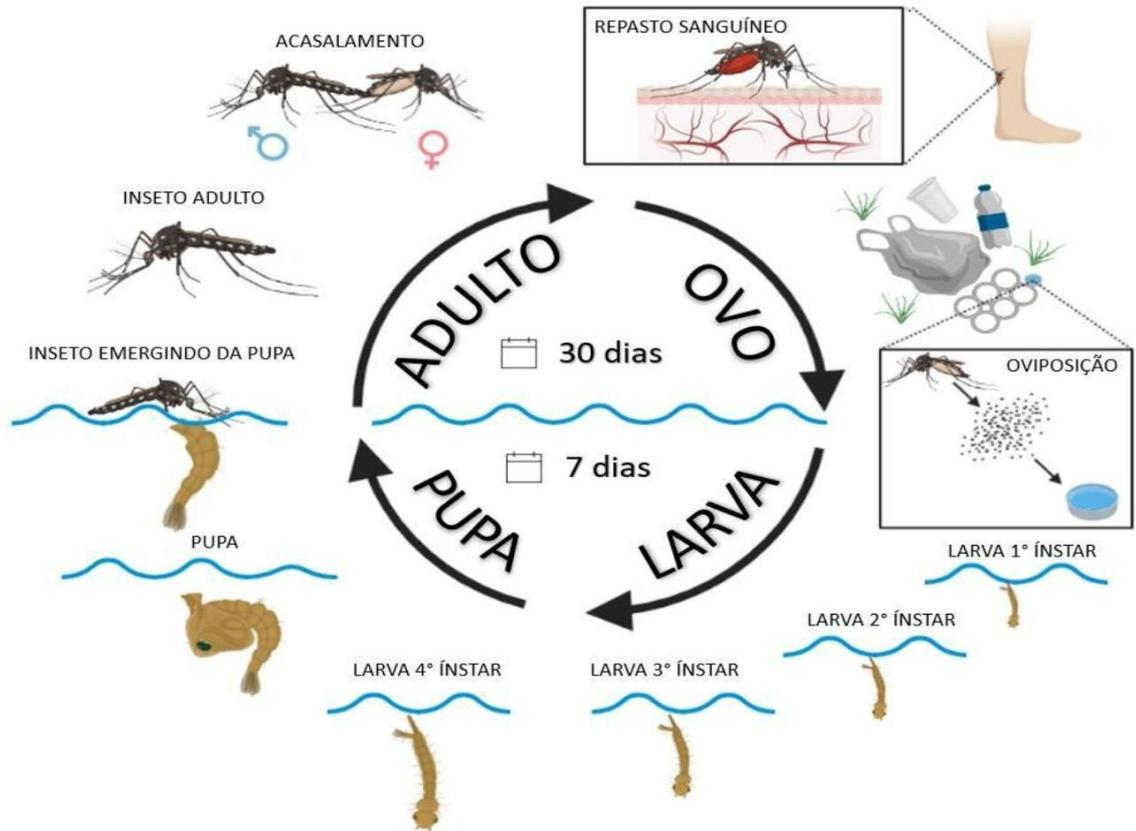
O mosquito *Aedes aegypti* é um inseto pertencente à ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae, subfamília Culicinae, tribo Aedini, Gênero *Aedes*, Subgênero *Stegomyia* (Consoli & Oliveira, 1994).

Dentro da família Culicidae as subfamílias Anophelinae e Culicinae englobam espécies de grande importância na saúde única, uma vez que as fêmeas são hematófagas e vetoras de agentes causadores de infecções para humanos e animais domésticos e silvestres (DE ALMEIDA, 2011).

O gênero *Aedes* (Meigen, 1818) (Diptera: Culicidae), pertence à tribo Aedini e compreende mais de 900 espécies de mosquitos formalmente distribuídas em 44 subgêneros. Dentre esses subgêneros, nove são encontrados na região Neotropical (FORATTINI, 2002). Este gênero inclui várias espécies de importância médica para a saúde pública, responsáveis pela transmissão de patógenos, como o vírus Zika (ZIKV), vírus Dengue (DENV), vírus da febre amarela (YFV) e vírus Chikungunya (CHIKV) em sua maioria transmitidos pela espécie *A. aegypti* no Brasil (E SILVIA, 2022).

### 2.2 Biologia

O ciclo de vida de *A. aegypti* apresenta características complexas, com mudanças significativas na morfologia, função e habitat ao longo do tempo (WU, et al., 2006; LEVI et al., 2014). Este inseto é holometabólico, ou seja, passa por diferentes estágios até atingir o completo desenvolvimento, incluindo ovo, quatro estágios larvais, pupa e inseto adulto. Grande parte do ciclo de vida desse mosquito ocorre em ambiente aquático, compreendendo os estágios de ovo, larva e pupa (HARKER et al., 2013; LUZ et al., 2020) (Figura 1).

Figura 1 - Ciclo biológico *Aedes aegypti*

Legenda: Ciclo mostrando o inseto emergindo da pupa e, em seguida, ocorrendo a cópula, para que a fêmea possa realizar o repasto sanguíneo, essencial para a maturação dos ovos. A oviposição normalmente ocorre em qualquer lugar propício ao acúmulo de água. Após a eclosão das larvas, segue-se a fase larval, composta por 4 estádios, seguida pela fase de pupa. O ciclo aquático tem duração aproximada de 7 dias, enquanto o período adulto é de 30 dias em condições ideais.

Fonte: Pereira & Castro, 2023 criado com BioRender

As fêmeas do mosquito *A. aegypti* apresentam um comportamento incansável na busca por hospedeiros ao longo de suas vidas, uma vez que o repasto sanguíneo desempenha um papel importante na regulação da maturação dos ovos em insetos hematófagos (GEISER., et al., 2003; FACCHINELLI, BADOLO & MCCALL, 2023). Normalmente, a fêmea de *A. aegypti* deposita seus ovos na parede do local de oviposição, acima do nível da água. Essa postura de ovos pode ocorrer em recipientes de água naturais e artificiais, variando em tamanho e material, tanto em áreas residenciais como em ambientes peridomiciliares. Durante sua vida, a fêmea pode produzir até cinco lotes de ovos, com uma média de 100 a 200 ovos por lote (CLEMONS et al., 2010; ABREU et al., 2015; FACCHINELLI, BADOLO & MCCALL, 2023).

No momento da postura, os ovos são inicialmente brancos, porém rapidamente adquirem uma coloração preta brilhante. Eles possuem aproximadamente 1 mm de comprimento e apresentam um contorno alongado e fusiforme (Figura 2). Uma vez postos,

esses ovos demonstram resistência à dessecação no ambiente, embora a viabilidade exata dependa da umidade relativa (FUNASA, 2001; MCGREGOR et al., 2021)

Figura 2 - Ovos *Aedes aegypti*

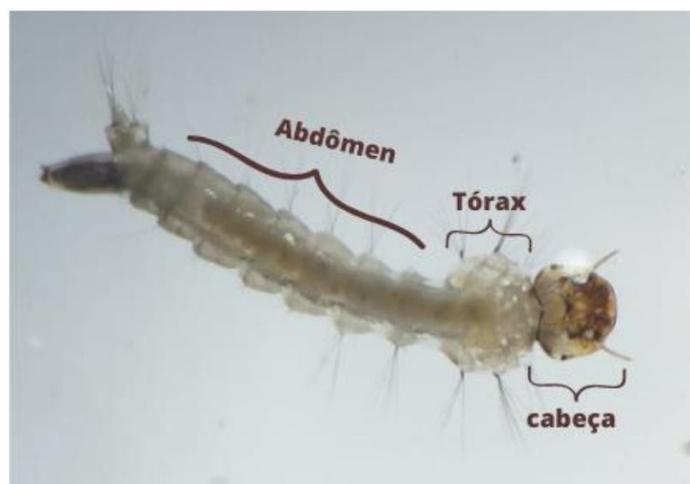


Fonte: Da autora, 2023

Do ovo ao adulto, há quatro estádios larvais e um ínstar pupal. As larvas mudam consideravelmente de tamanho durante seu desenvolvimento; o primeiro estágio tem apenas cerca de 1 mm de comprimento, enquanto o quarto instar tem aproximadamente 8 mm de comprimento (SCHAPER et al., 2006)

A larva de *A. aegypti* apresenta uma estrutura corporal composta por cabeça, tórax e abdômen (Figura 3). Elas apresentam um sifão respiratório, através do qual os espiráculos se abrem na extremidade desse órgão. (FUNASA, 2001; GOMES, 2009).

Figura 3 - Larva de *Aedes aegypti*



Fonte: Da autora, 2023

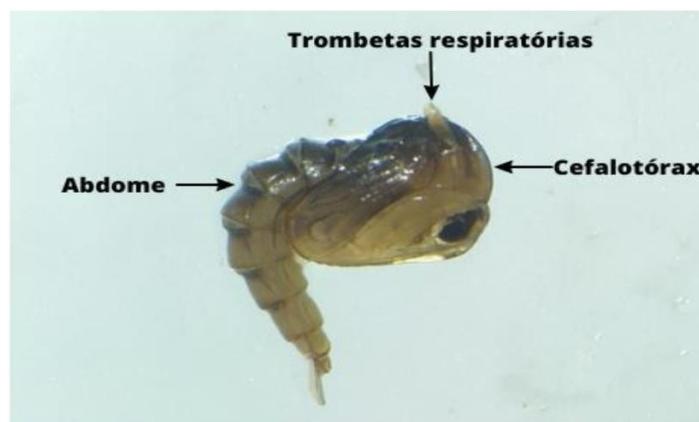
As mudanças estruturais durante o desenvolvimento larval são evidentes, principalmente nas peças bucais, o que pode estar relacionado a uma alteração na dieta durante a maturação larval. Supõe-se que as larvas do primeiro e segundo estágio se alimentem

principalmente de bactérias, enquanto as larvas do terceiro e quarto instar consomem partículas orgânicas maiores (SCHAPER et al., 2006).

Diversos fatores ambientais, como temperatura, salinidade, pH, nutrientes dissolvidos e gases presentes no habitat aquático, exercem influência no crescimento das larvas do inseto (BAR & ANDRE W, 2013). Sob condições ótimas, o período compreendido entre a eclosão e a pupação pode não ultrapassar cinco dias. No entanto, em temperaturas baixas e escassez de alimentos, o quarto estágio larval pode se estender por várias semanas antes da transformação em pupa (FUNASA, 2001). Além disso, o pH do meio onde as larvas estão inseridas exerce um impacto significativo no desenvolvimento das formas imaturas de *A. aegypti*. Quando expostas a um ambiente com pH ácido, mesmo que as condições de temperatura e umidade sejam favoráveis, as formas imaturas não conseguem se desenvolver de maneira viável (DOS SANTOS et al., 2012).

Após atingir o quarto estágio larval, o inseto passa para uma fase de pupa móvel, que não se alimenta. Esse estágio dura aproximadamente dois dias, durante os quais as pupas permanecem na superfície da água, flutuando. Essa posição facilita a emergência do inseto adulto. A pupa é composta por uma divisão entre o cefalotórax e o abdômen. A cabeça e o tórax estão fundidos, formando a região conhecida como cefalotórax, o que dá à pupa, quando vista de lado, uma aparência semelhante a um ponto-vírgula. Além disso, a pupa possui um par de tubos respiratórios ou trombetas, que atravessam a água e permitem a respiração (FUNASA, 2001; CLEMONS et al., 2010) (Figura 4).

Figura 4 - Pupa *Aedes aegypti*



Fonte: Da autora, 2023

Os adultos são insetos de tamanho médio, com cerca de 4 a 7 mm de comprimento. Possuem escamas brancas na superfície dorsal do tórax e um abdômen de coloração marrom

escuro a preto, que pode apresentar escamas brancas. A identificação desses insetos é facilitada pela presença de um desenho em forma de lira no tórax, claramente visível a olho nu (ARAÚJO et al., 2011). Além disso, os segmentos tarsais das pernas traseiras exibem bandas basais brancas, formando o que parece ser listras distintivas. (Figura 5).

Figura 5 - *Aedes aegypti* adulto



Fonte: Da autora, 2023

Tanto os machos quanto as fêmeas de *A. aegypti* se alimentam de soluções açucaradas presentes em plantas. No entanto, são as fêmeas que possuem peças bucais adaptadas para sugar e se alimentar do sangue de vertebrados antes da oviposição. A duração da vida adulta desse inseto varia de acordo com as condições ambientais, geralmente situando-se entre duas semanas e um mês. (CLEMONS et al., 2010).

### 2.3 Criadouro

O comportamento sinantrópico de *Aedes aegypti* é fortemente influenciado pelo ambiente urbano e doméstico. Nas cidades com crescimento desordenado, tratamento inadequado de esgoto, armazenamento inadequado de água ou falta de destinação adequada e proteção do lixo, há uma maior proximidade desse vetor com as residências. Esses fatores resultam em mudanças no comportamento de oviposição, devido à alteração na disponibilidade de novos potenciais criadouros (CAVALCANTI et al., 2016).

Dessa forma, as larvas de *A. aegypti* são encontradas em uma variedade de habitats antropogênicos, incluindo recipientes artificiais com bordas retas, nos quais a fêmea do mosquito deposita seus ovos. Isso inclui itens como pneus de veículos, bases de plantas em

vasos, vasos, caixas d'água, lonas plásticas, calhas de telhado bloqueadas, baldes, tigelas para animais de estimação, regadores, bueiros. (MCNAUGHTON et al., 2018).

Os programas de controle da dengue têm como elemento central a eliminação de recipientes que contenham água limpa, visto que *A. aegypti* está geralmente associado a esse tipo de água. No entanto, estudos científicos já documentaram a presença dessa espécie em recipientes com água poluída, água salobra e até mesmo em fossas sépticas (DE BRITO ARDUINO et al., 2015). Além disso, é importante ressaltar que *A. aegypti* tem uma tendência a colonizar principalmente áreas urbanas e suburbanas em países tropicais, devido às condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento pós-embriônico. Isso resulta em sobreposições de distribuição em grande parte dessas regiões (SANTANA-MARTÍNEZ et al., 2017).

#### **2.4 Manutenção de colônia de *Aedes aegypti***

A espécie *Aedes aegypti* está entre os insetos mais amplamente pesquisados devido ao seu papel crucial como vetor de patógenos de importância médica e veterinária e também sua facilidade de criação em laboratório. Dessa forma, o controle efetivo da transmissão desses patógenos depende primordialmente do controle dos vetores, uma vez que não existem vacinas eficazes para todos esses patógenos. A vasta quantidade de estudos dedicados a esse mosquito é reflexo da preocupação global com as doenças transmitidas por ele e da necessidade de desenvolver estratégias de prevenção e controle eficazes (SOGHIGIAN, 2020).

Diferentes abordagens biotécnicas, como a liberação de transgênicos ou mosquitos estéreis e o desenvolvimento de vacinas bloqueadoras da transmissão, estão sendo aplicadas para tentar controlar a população de *A. aegypti* e/ou a transmissão de arbovírus (RODRIGUES-ALVES et al., 2020). Todas essas abordagens requerem experimentos científicos em laboratório para estudar sua biologia, comportamentos e fisiologia para ampliar a compreensão da relação mosquito vetor-patógeno e fornecer uma plataforma para o direcionamento de medidas de controle (DILANI et al., 2023).

A utilização de métodos padronizados na criação do mosquito *A. aegypti* desempenha um papel fundamental na realização de estudos laboratoriais controlados (WOHL et al., 2022). Para alcançar o sucesso na produção desses insetos, é essencial atender a certos requisitos. É imprescindível contar com ambientes controlados, nos quais o fotoperíodo, a temperatura e a umidade sejam adequadas às necessidades de cada espécie. Além disso, é necessário dispor de instalações estruturadas para o manejo dos insetos (HERCULANO, 2020).

Nos protocolos de criação de colônias de *A. aegypti* em ambiente laboratorial, diversas técnicas são empregadas para a eclosão dos ovos e o desenvolvimento larval. Em muitos casos, utiliza-se água destilada como meio de criação. No entanto, existem métodos nos quais se adiciona fermento biológico seco granulado à água (SANTOS et al., 2010; ANJOLETTE et al., 2016; GUNATHILAKA et al., 2019). Além da água destilada, em laboratório, também são utilizados outros tipos de água, como água deionizada, água de torneira decolorada e água filtrada (SERPA et al., 2008; ARSHAD et al., 2021; DURANT et al., 2021).

A manutenção de colônias do mosquito *A. aegypti* no ambiente laboratorial envolve várias etapas, que incluem a coleta de ovos, a eclosão das larvas e alimentação até atingirem a fase adulta. Para garantir o desenvolvimento saudável das larvas, é essencial fornecer uma dieta adequada, geralmente na forma de ração específica. À medida que as larvas se transformam em pupas, elas são transferidas para copos e posteriormente colocadas em gaiolas para permitir a emergência dos mosquitos adultos (ANJOLETTE et al., 2016; COSTA et al., 2021).

Durante a fase adulta, os mosquitos são alimentados com uma solução açucarada para suprir suas necessidades energéticas. Posteriormente, é fornecida uma fonte de sangue para as fêmeas, o que promove a maturação dos ovos. Após cerca de 4 dias, os ovos podem ser observados nas fitas de papel filtro, dando origem a um novo ciclo de criação do mosquito (ANJOLETTE et al., 2016; WOHL et al., 2022).

## 2.5 Óleo essencial

Os OE são compostos naturais voláteis, complexos e caracterizados por possuírem um aroma distinto. São produzidos pelas plantas aromáticas como metabólitos secundários, sendo encontrados nas folhas, caules, flores, frutos, cascas e raízes dessas plantas (WIŃSKA et al., 2019).

Esses OEs são produzidos por mais de 17.500 espécies de plantas pertencentes a diversas famílias de angiospermas, como *Lamiaceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Zingiberaceae* e *Asteraceae*. No entanto, apenas cerca de 300 espécies têm aplicações comerciais. Os OE têm sido utilizados na medicina devido às suas propriedades biológicas. Eles apresentam ação larvicida, analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, fungicida, antitumoral, antiviral, entre outras. Dessa forma, essas propriedades têm despertado interesse na pesquisa científica e na aplicação terapêutica desses compostos naturais (WIŃSKA et al., 2019).

Além disso, pesquisas têm revelado que os OE de várias plantas possuem substâncias tóxicas para as larvas de diferentes gêneros de insetos de importância médica-veterinária e agrícola. Por essa razão, muitos pesquisadores têm incentivado a utilização de óleos essenciais ou extratos de plantas como alternativas para o controle de vetores. Os OE de plantas possuem a capacidade de interferir nos sistemas respiratório, digestivo, metabólico e comportamental dos insetos (ISHAK et al., 2021).

Estudos recentes também têm focado em produtos de origem vegetal que apresentam baixa toxicidade e reduzem o acúmulo de produtos químicos tóxicos no meio ambiente. Entre esses produtos naturais, os OE têm se mostrado alternativas potenciais aos produtos químicos sintéticos porque são eficazes, ecologicamente corretos e estão disponíveis para muitas partes do mundo (MANH et al., 2020).

Na natureza, os metabolitos secundários possuem uma função importante na proteção das plantas, atuando como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos e inseticidas, além de serem eficazes contra herbívoros, reduzindo seu apetite pelas plantas. Esses compostos também podem atrair determinados insetos, favorecendo a dispersão de pólen e sementes, ao mesmo tempo em que repelem outros insetos indesejáveis (BAKKALI et al., 2008).

Geralmente, esses óleos são obtidos a partir de metabolitos secundários das plantas e utilizando processos como destilação a vapor, hidrodestilação, destilação seca ou prensagem mecânica a frio das plantas para a obtenção do produto (BAKKALI et al., 2008). No método de extração por arraste a vapor, o material vegetal, de onde será extraído o óleo, é previamente moído ou triturado, dessa forma, ocorre um aumento do contato do material com o vapor, e como resultado da alta temperatura, as estruturas em que os óleos essenciais se encontram se rompem. Isso resulta no arraste dos compostos voláteis juntamente com o vapor d'água. (FÜLLER, 2008; MARCOLINA, 2021). Este processo utiliza uma caldeira para geração de vapor, um extrator (destilador), onde é colocada a matéria prima a ser extraída, um condensador e um frasco de coleta (separador) (SILVEIRA et al., 2012).

A técnica de extração por arraste a vapor é iniciada quando o vapor de água atravessa o material vegetal, levando consigo o óleo presente nas plantas. O óleo se vaporiza devido ao choque térmico e é transportado pelo vapor até alcançar o condensador. No condensador, a mistura de óleo e hidrolato (subproduto com maior concentração de água) resfria-se e retorna ao estado líquido. Por fim, no separador, o óleo é separado do hidrolato com base nas diferenças de polaridade e densidade entre as substâncias (AZAMBUJA, 2011).

## 2.6 Características botânicas e óleo essencial da *Eugenia pyriformis*

A família Myrtaceae é uma das principais famílias de árvores frutíferas comerciais do mundo. Dentre os 121 gêneros pertencentes a esta família, destacam-se *Syzygium*, *Eugenia* e *Campomanesia*. Esses gêneros são constituídos por uma grande variedade de espécies frutíferas com grande potencial para serem exploradas economicamente, além de apresentarem excelente valor nutricional e serem consideradas fontes de fitoquímicos, tais como compostos fenólicos, carotenoides e compostos voláteis. (DE PAULO FARIAS et al., 2020).

A espécie *E. pyriformis* é uma planta comumente encontrada nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo conhecida pelos nomes populares de "uvaia", "uvaieira" ou arbusto do campo. Essa planta tem o ciclo de vida perene, podendo atingir de 6 a 13 metros de altura, com tronco ereto de cor marrom e copa arredondada. A floração ocorre de agosto a setembro, e os frutos amadurecem entre novembro e dezembro (MEDEIROS et al., 2019).

Os frutos são cítricos, apresentam formato esférico, achatado e piriforme, a textura pode ser mais macia ou firme, e a coloração varia entre tons amarelos e alaranjados, são comestíveis e podem ser utilizados para fazer sucos, vinagres e vinhos. O gênero ao qual ela pertence apresenta um grande número de espécies no Brasil, sendo conhecido pela produção de óleos essenciais e na fabricação de sorvetes, refrescos, geleias, licores e vinho, (BEZERRA et al., 2018; MEDEIROS et al., 2019; DE SOUZA et al., 2020; SGANZERLA et al., 2022).

As folhas de *E. pyriformis* são simétricas, elíptico-lanceoladas, com ápice e base agudos e textura subcoriácea. Elas possuem compostos bioativos que apresentam propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas (ARMSTRONG et al., 2012; KLEIN et al., 2018).

As uvaia, assim como outras frutas, apresentam um perfil químico metabólico caracterizado por compostos relacionados ao seu valor nutricional, aroma, sabor e propriedades benéficas à saúde. Esses compostos podem incluir metabólitos primários onipresentes, envolvidos em funções básicas, como aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos, além de metabólitos secundários específicos das frutas, como compostos fenólicos (SPRICIGO et al., 2023).

As características mais marcantes de *E. pyriformis* são seu aroma com notas frutadas e seus teores fenólicos e terpênicos. Seu perfil volátil apresenta a identificação de 59 compostos, com predominância de monoterpenos e sesquiterpenos. O ácido gálico tem sido relatado como o principal componente fenólico dessa fruta (SPRICIGO et al., 2023).

Os OE das espécies de Myrtaceae são caracterizados pela presença de compostos terpênicos com comprovada atividade microbiológica. Estudos realizados sobre a composição química do OE de *Eugenia pyriformis* revelaram que a fração sesquiterpênica é predominante, representando 51,3%, em comparação com a fração monoterpênica, que corresponde a 29,0%. Dois componentes importantes para esse óleo são o limoneno (monoterpeno) com uma proporção de 12,4% e o óxido de cariofileno (sesquiterpeno) com 16,2%, os quais não são comumente encontrados em espécies de Myrtaceae (STIEVEN et al., 2009). Estudos já mostraram efeitos larvicidas contra *A. aegypti* relacionados a esses dois componentes (FURTADO et al., 2005; SILVA et al., 2006).

Devido à sua composição química, diversos estudos in vitro têm demonstrado os efeitos antimicrobianos do OE da uvaia contra diversos microrganismos, como bactérias, fungos, vírus e protozoários (DA SILVA et al., 2022).

Vários estudos também mostram que o gênero *Eugenia*, tem sido identificado como uma fonte rica de fitocompostos que exibem diversas atividades biológicas de grande interesse para os campos farmacêutico, agrícola, biológico e biotecnológico (DE MENEZES FILHO et al., 2021).

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Geral**

Avaliar a toxicidade do óleo essencial de *Eugenia pyriformis* sobre larvas de *Aedes aegypti*

#### **3.2 Específico**

- Avaliar o potencial tóxico do óleo essencial de *E. pyriformis* em larvas de *Aedes aegypti*.
- Calcular o rendimento do óleo essencial de *E. pyriformis*.
- Calcular a dose letal necessária para matar 50% (LD50) da população de *A. aegypti* cepa Rockfeller.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção e manutenção da colônia de *A. aegypti*

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Parasitária II (BIOPAR II) do Departamento de Medicina. Para o experimento, foram utilizados ovos de *A. aegypti* da cepa 'Rockefeller', fixados em papel filtro, fornecidos pelo Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos da Universidade Federal de Minas Gerais.

Para a eclosão, a fita foi colocada em um recipiente com água previamente dechlorada. O recipiente foi então colocado em uma incubadora B.O.D., mantida a uma temperatura de 27 °C, para que ocorresse a eclosão. Após um dia já era possível ver larvas de primeiro estágio, elas então foram alimentadas com ração de peixe. Após uma semana, as larvas foram retiradas da incubadora B.O.D., e o recipiente foi levado para uma sala com temperatura e umidade controladas (Figura 6).

Figura 6 - Recipiente e local onde os diferentes estágios do inseto eram mantidos



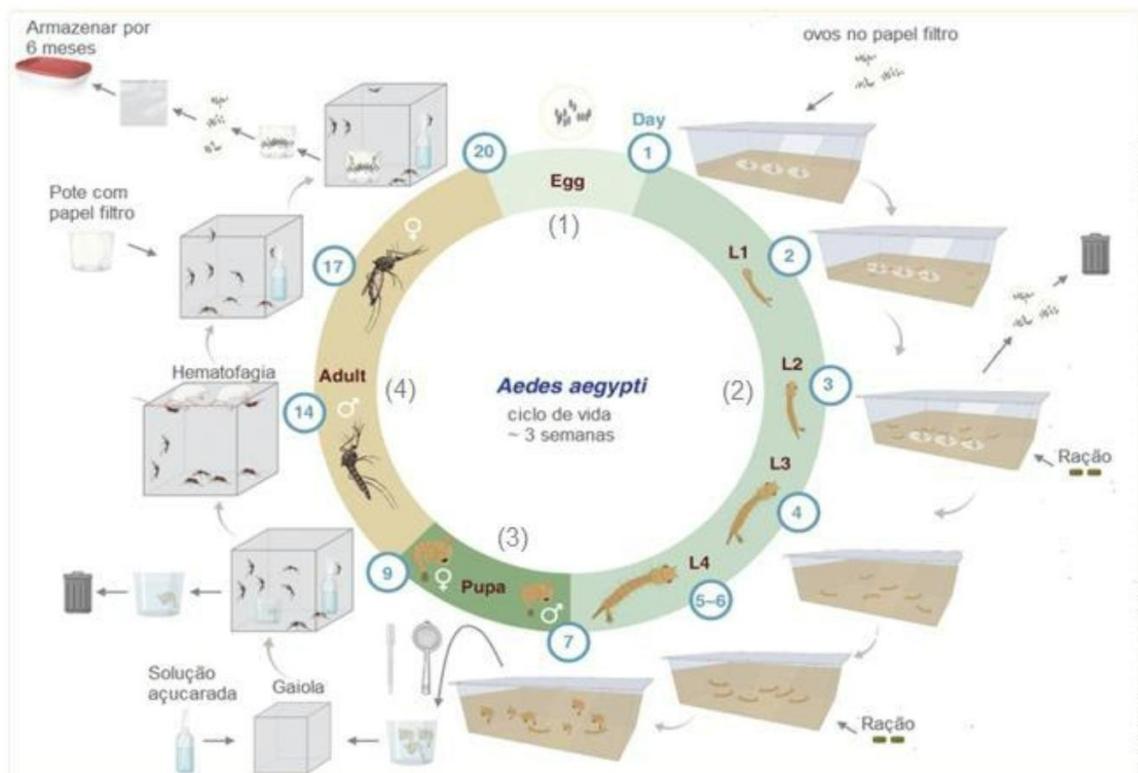
Legenda: **(A)** Recipiente com água e fita de ovos de *A. aegypti* para eclosão; **(B)** Incubadora B.O.D., onde foi colocada a bacia com água e fita de ovos; **(C)** Sala com temperatura e umidade controladas no insetário do BIOPAR II.

Fonte: Da autora, 2023

No processo de manutenção da colônia, era necessário realizar a troca de água em intervalos alternados e fornecer ração de peixe como alimento para as larvas. Após aproximadamente 7 dias, já era possível observar a presença de pupas na água. Para separar as pupas das larvas, utilizou-se uma pipeta de Pasteur. As pupas foram transferidas para um coletor universal contendo água, o qual foi colocado dentro de gaiolas teladas para sua posterior criação. A alimentação dos insetos adultos consiste em uma solução de açúcar diluído em água.

Para a maturação dos ovos, as fêmeas eram alimentadas com sangue de hamsters do Biotério Experimental do Laboratório de Biologia Parasitária II. Os hamsters eram previamente anestesiados e colocados em gaiolas por um período de meia hora, permitindo o repasto sanguíneo. Essa alimentação ocorria quinzenalmente. Após o repasto sanguíneo, era aguardado um período de três dias, e então era colocado dentro da gaiola um recipiente preto contendo água até a metade, juntamente com um papel filtro, para a oviposição. Após três dias, o recipiente com o papel filtro era removido. O papel filtro era transferido para um componente onde ficava até secar e, posteriormente era armazenado em um envelope, onde poderia ser mantido por até 6 meses (Figura 7).

Figura 7 - Etapas para manutenção de colônias de *Aedes aegypti* em laboratório



Legenda: (1) fita com ovos que será colocada na água para a eclosão das larvas. (2) Fase do desenvolvimento larval, após todas as larvas eclodirem a fita é descartada e as larvas são alimentadas com ração. (3) fase da pupa, onde são separadas das larvas e colocadas em um pote dentro da gaiola para o mosquito adulto emergir. (4) Fase do inseto adulto, onde após emergirem da pupa são alimentados

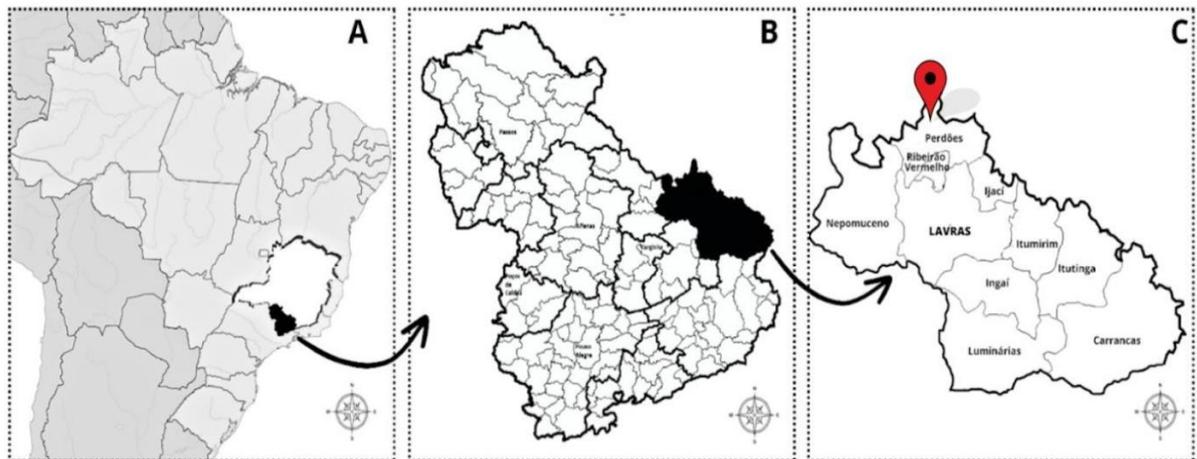
com solução açucarada a 30%, nessa fase ocorre a alimentação das fêmeas com sangue para maturação dos ovos e para a coleta desses ovos são utilizados um pote e papel filtro que ao secar pode ficar armazenado por 6 meses.

Fonte: WOHL, Margot P., 2023

#### 4.2 Obtenção do óleo essencial de *Eugenia pyriformis*

Para obtenção do OE, as folhas de *E. pyriformis* foram coletas no município de Perdões, Minas Gerais em três pontos diferentes (Figura 8). O clima predominante em Perdões é o tropical de altitude, caracterizado por estiagens no inverno e altos índices pluviométricos nos meses de novembro a março. A altitude do município é de 767 metros. A vegetação local é uma transição entre o cerrado e a floresta semidecídua do Sudeste do país.

Figura 8 - Localização do município de Perdões

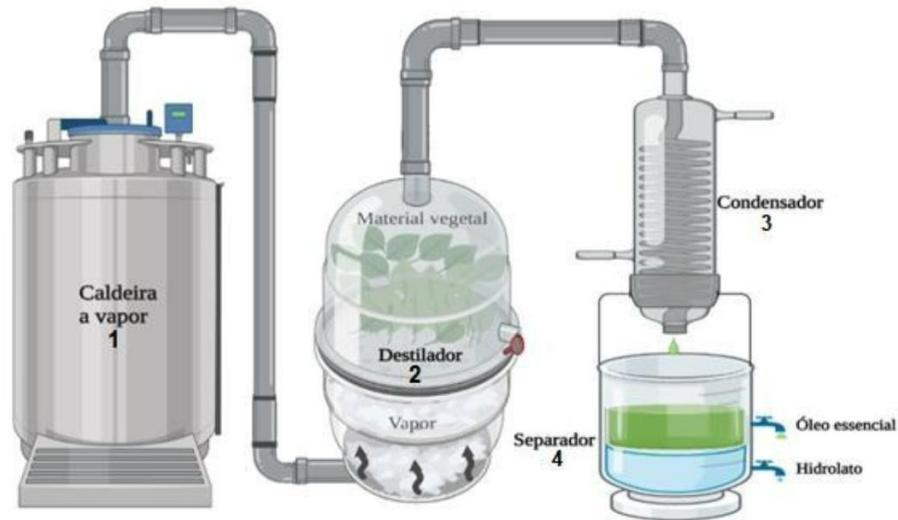


Legenda: (A) Mapa do Brasil com ênfase para o estado de Minas Gerais e a Macrorregião Sul. (B) Macrorregião Sul com ênfase para a Microrregião de Lavras. (C) Microrregião de Lavras, com ênfase para o município de Perdões.

Fonte: Barçante, 2023

O OE foi extraído por meio da técnica de arraste a vapor no Horto de Plantas Medicinais da UFLA (Figura 9).

Figura 9 - Método de extração de óleo essencial por arraste a vapor



Legenda: **(1)** Caldeira a vapor para gerar o vapor até chegar ao material. **(2)** Destilador lugar onde fica o material vegetal e o vapor passa para levar o óleo essencial desse material. **(3)** Condensador ocorre a mistura do hidrolato com o óleo, ocorre também o resfriamento mudando o estado gasoso para líquido. **(4)** Separador o óleo é separado do hidrolato por terem diferentes densidade e polaridade.

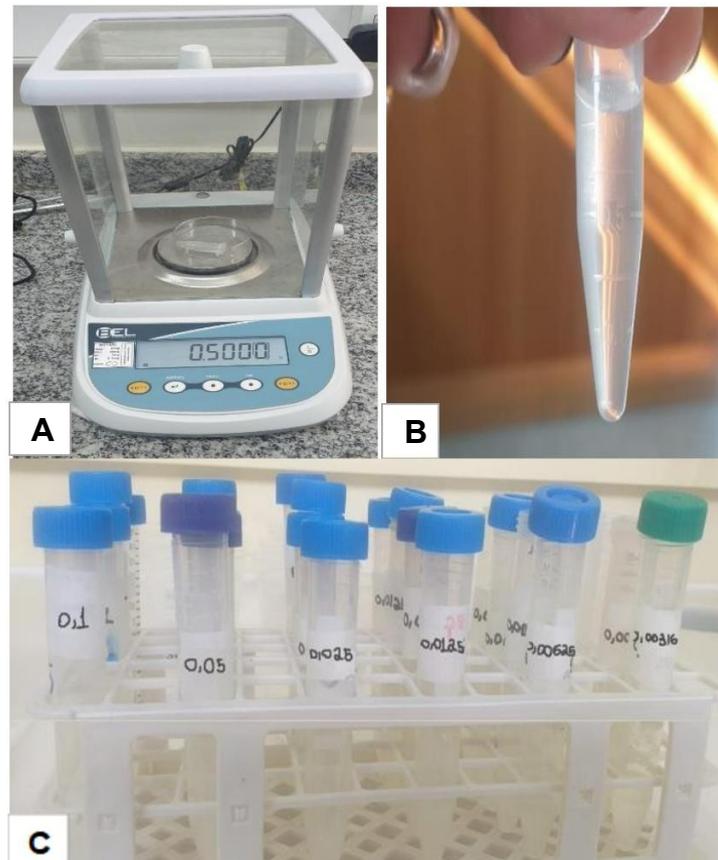
Fonte: Da autora, criado com BioRender.com

Para o cálculo de rendimento do OE de *E. pyriformis* foi dividido o volume de óleo, em mL, pela massa, em gramas de material utilizado. Nesse caso a massa foi 4.500g e o volume foi 4,2 mL. Dando 0,093% de rendimento.

### 4.3 Bioensaio do efeito do óleo essencial sobre as larvas de *Aedes aegypti*

O bioensaio foi feito de acordo com a metodologia padronizada pela Organização Mundial da Saúde, utilizando larvas do *A. aegypti*. Para fazer a diluição o OE foi colocado em um microtubo e pesado (0,5g), depois foi adicionado a 1 mL de DMSO. Após esses processos foi feita a diluição dessa concentração central para a formações de outras 6 concentrações (Figura 10), após a diluição foram feitas as conversões de acordo com a quantidade de água inserida no copo onde as larvas ficaram para assim chegar na unidade de  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 11).

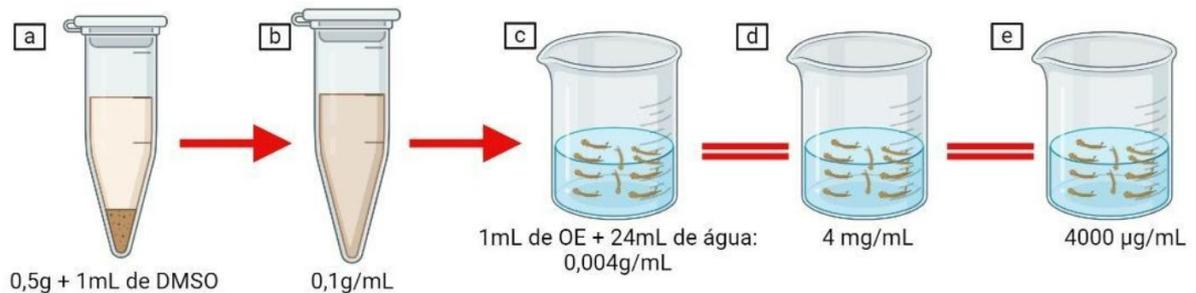
Figura 10 - Preparo do óleo essencial para a diluição da concentração



Legenda: (A) balança contendo a eppendorf com 0,5g de OE da *Eugenia pyriformis*; (B) Solução contendo OE e DMSO; (C) concentrações diluídas, sendo elas, 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625 e 0,00312.

Fonte: Da autora, 2023

Figura 11 - Conversão das unidades de concentração



Legenda: (a) eppendorf com 0,5g de óleo essencial misturado com 1 ml de DMSO. (b) eppendorf contendo 0,1 g/ml da solução. (c) diluição da conversão em 0,004 g/ml uma vez que o óleo essencial foi colocado no copo contendo mais 24 ml. (d) conversão de g/ml para mg/ml. (e) conversão de mg/ml para  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Fonte: Castro, 2023

Logo após a preparação da concentração, dentro de uma capela de exaustão, foram separadas 15 larvas e colocadas em copos com 24 mL de água deionizada. Para cada

concentração, foram separados 4 copos contendo 15 larvas cada. Logo após separá-las, as soluções contendo o OE e o DMSO foram adicionadas aos copos de acordo com sua concentração. Em seguida os recipientes foram colocados em uma B.O.D. com uma temperatura de 27 °C (Figura 12). As larvas foram observadas nos intervalos de 24 horas, 48 horas e 72 horas. Para o controle, foram separados dois copos, cada um contendo 15 larvas de terceiro estágio, sendo que um copo continha apenas 24 mL de água, enquanto o outro continha 24 mL de água e 200 µL de DMSO.

Figura 12 - Experimento dentro da B.O.D.



Fonte: Da autora, 2023

O método adotado para quantificar a mortalidade das larvas foi feito de acordo com a observação do comportamento das mesmas. Larvas que permaneciam imóveis mesmo após estímulo eram consideradas como mortas. Para estimulá-las, utilizou-se uma espátula, sendo feita uma manipulação de forma cuidadosa para não prejudicá-las. Essa estimulação é necessária uma vez que algumas larvas tendem a ficar imóveis mesmo estando vivas. Portanto, larvas que não demonstravam qualquer sinal de movimento após o estímulo eram consideradas mortas.

#### 4.4 Análises estatísticas

Os dados foram organizados em planilha, previamente identificada com o tipo de extrato, no software Microsoft Excel (Office 2010). As concentrações letais (LC do inglês Lethal Concentrations) 50%, 90% e 99% e o slope foram calculadas a partir do software PoloPlus® (Raymond, 1985). Os dados que tiveram diferenças significativas nos valores de LC50 e LC90 foram baseados de acordo com Hematpoor e colaboradores (2017) e Wang e colaboradores (2019) a não sobreposição de intervalos de confiança a 95%.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os experimentos foram realizados em uma B.O.D. com temperatura e umidade controladas sendo que a média da temperatura nos 3 dias de experimento foi de  $24,75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , já a média da umidade foi de  $65\% \pm 17\%$  (Tabela I).

Tabela I – Temperatura e umidade mínima, máxima e desvio padrão registradas na B.O.D.

TEMPERATURA (°C)	24h	48h	72h	Média	$\sigma$	$\sigma$ ARREDONDADO
Máxima	27,1	27,2	27,3	27,2	0,1	0
Mínima	20,4	23,1	23,4	22,3	1,652271164	2
<b>Média</b>	<b>23,75</b>	<b>25,15</b>	<b>25,35</b>	<b>24,75</b>	<b>3,464823228</b>	<b>3</b>
UMIDADE (%)						
Máxima	80	71	76	76	4,509249753	5
Mínima	54	50	52	52	2	2
<b>Média</b>	<b>67</b>	<b>60,5</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>16,97056275</b>	<b>17</b>

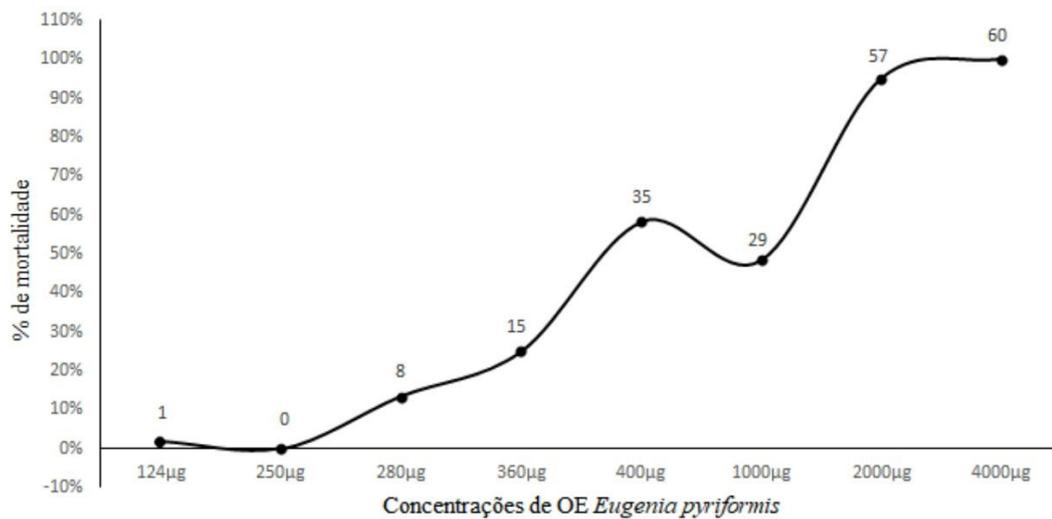
Fonte: Castro, 2023

Tabela II – Percentual de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* de acordo com as diferentes concentrações de óleo essencial de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 24 horas.

Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	24H				Total (%)	DP
	I	II	III	IV		
4000 $\mu\text{g}$	15	15	15	15	100%	0
2000 $\mu\text{g}$	15	12	15	15	95%	2
1000 $\mu\text{g}$	9	8	2	10	48,30%	4
400 $\mu\text{g}$	4	11	14	6	58,33%	5
360 $\mu\text{g}$	0	5	0	10	25%	5
280 $\mu\text{g}$	6	0	2	0	13,33%	3
250 $\mu\text{g}$	0	0	0	0	0%	0
124 $\mu\text{g}$	0	0	0	1	1,70%	0,5

Fonte: Da autora, 2023

Gráfico I – Curva de mortalidade (%) das larvas de *Aedes aegypti* com diferentes concentrações de OE de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 24 horas.



Fonte: Da autora, 2023

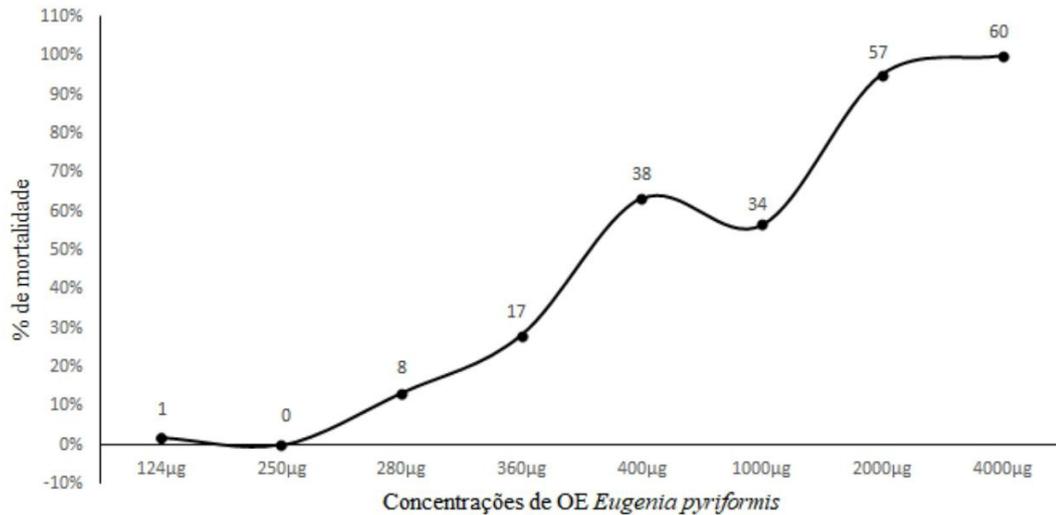
Nas primeiras 24 horas, observou-se um alto índice de mortalidade das larvas nas quatro concentrações mais altas 4000 $\mu\text{g}$ , 2000 $\mu\text{g}$ , 1000 $\mu\text{g}$  e 4000 $\mu\text{g}$ . A taxa de mortalidade foi de 100% com 60 mortes na concentração de 4000 $\mu\text{g}$ , 95% com 57 mortes na concentração de 2000 $\mu\text{g}$ , 48,30% com 29 mortes na concentração de 1000 $\mu\text{g}$  e 58,33% com 35 mortes na concentração de 400 $\mu\text{g}$ . Por outro lado, as concentrações mais baixas apresentaram uma menor taxa de mortalidade. Na concentração de 360 $\mu\text{g}$  observou-se uma taxa de mortalidade de 25% com 15 mortes, a de 280 $\mu\text{g}$  apresentou 13,33% com 8 mortes, a de 250 $\mu\text{g}$  não registrou nenhuma morte (0%) e a de 124 $\mu\text{g}$  observou-se uma taxa de mortalidade de 1,7% com 1 morte (Tabela II) (Gráfico I).

Tabela III – Percentual de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* de acordo com as diferentes concentrações de óleo essencial de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 48 horas

Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	48H				Total (%)	DP
	I	II	III	IV		
4000 $\mu\text{g}$	15	15	15	15	100%	0
2000 $\mu\text{g}$	15	12	15	15	95%	2
1000 $\mu\text{g}$	12	8	2	12	56,67%	5
400 $\mu\text{g}$	6	11	14	7	63,33%	4
360 $\mu\text{g}$	0	6	0	11	28%	5
280 $\mu\text{g}$	6	0	2	0	13,33%	3
250 $\mu\text{g}$	0	0	0	0	0%	0
124 $\mu\text{g}$	0	0	0	1	1,70%	0,5

Fonte: Da autora, 2023

Gráfico II – Curva de mortalidade (%) das larvas de *Aedes aegypti* com diferentes concentrações de OE de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 48 horas.



Fonte: Da autora, 2023

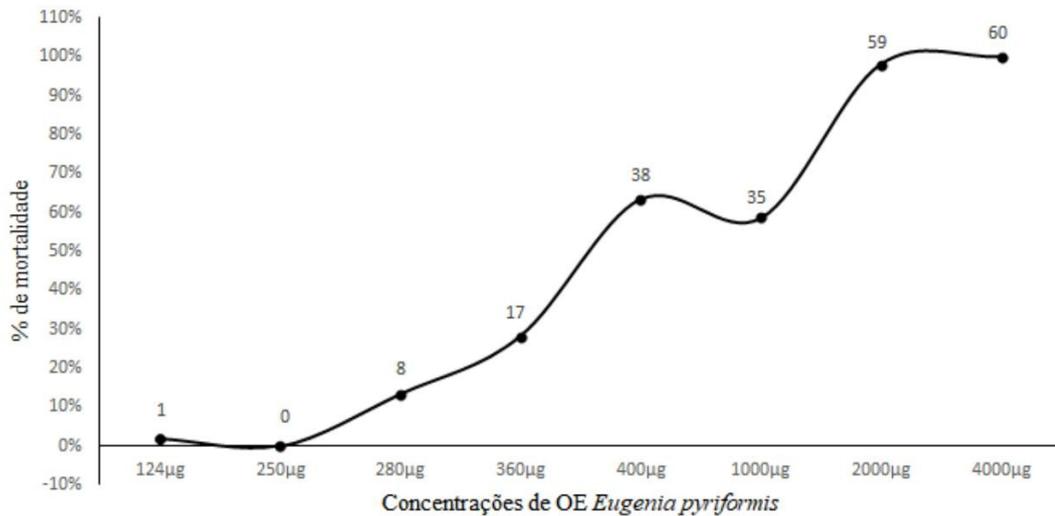
Após 48 horas, foi observado um aumento de 8,37% na taxa de mortalidade da concentração de 1000 $\mu\text{g}$ , resultando em 34 mortes. A taxa de mortalidade da concentração de 400 $\mu\text{g}$  aumentou em 5%, chegando a 38 mortes. Além disso, houve um aumento de 2% na concentração de 360 $\mu\text{g}$ , tendo 17 mortes. Por outro lado, os índices de mortalidade das concentrações de 2000 $\mu\text{g}$ , 280 $\mu\text{g}$ , 250 $\mu\text{g}$  e 124 $\mu\text{g}$  permaneceram inalterados. (Tabela III) (Gráfico II).

Tabela IV – Percentual de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* de acordo com as diferentes concentrações de óleo essencial de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 72 horas.

Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	72H				Total (%)	DP
	I	II	III	IV		
4000 $\mu\text{g}$	15	15	15	15	100%	0
2000 $\mu\text{g}$	15	14	15	15	98%	2
1000 $\mu\text{g}$	12	9	2	12	58,33%	5
400 $\mu\text{g}$	6	11	14	7	63,33%	4
360 $\mu\text{g}$	0	6	0	11	28%	5
280 $\mu\text{g}$	6	0	2	0	13,33%	3
250 $\mu\text{g}$	0	0	0	0	0%	0
124 $\mu\text{g}$	0	0	0	1	1,70%	0,5

Fonte: Da autora, 2023

Gráfico III – Curva de mortalidade (%) das larvas de *Aedes aegypti* com diferentes concentrações de OE de *Eugenia pyriformis* no intervalo de 72 horas.



Fonte: Da autora, 2023

No período de 72 horas, foi observado um aumento contínuo na taxa de mortalidade das concentrações de 2000 $\mu\text{g}$ , atingindo um índice de mortalidade de 98%, correspondendo a 59 mortes. Além disso, a concentração de 1000 $\mu\text{g}$  também apresentou um aumento na mortalidade das larvas, chegando a 58,3%, totalizando 35 mortes. Por outro lado, as concentrações restantes mantiveram a mesma taxa de mortalidade (Tabela VI) (Gráfico III).

É possível observar que as curvas de mortalidade dos gráficos I, II e III mantiveram semelhantes com o passar das 72 horas.

Tabela V – Doses de mortalidade com intervalo de confiança de 90% e 95%

	DOSE	IC90% (INFERIOR- SUPERIOR)	IC95% (INFERIOR- SUPERIOR)
<b>DL10</b>	220 $\mu\text{l}$	(102 - 317,5 $\mu\text{l}$ )	(66,3 - 342,5 $\mu\text{l}$ )
<b>DL50</b>	575,6 $\mu\text{l}$	(415 - 898,3 $\mu\text{l}$ )	(376,6 - 1098,6 $\mu\text{l}$ )
<b>DL90</b>	1506,2 $\mu\text{l}$	(948,3 - 4524,4 $\mu\text{l}$ )	(870,6 - 8653,8 $\mu\text{l}$ )
<b>DL95</b>	1978,4 $\mu\text{l}$	(1160,7 - 7389,4 $\mu\text{l}$ )	(1055,3 - 16253 $\mu\text{l}$ )
<b>DL99</b>	3299,6 $\mu\text{l}$	(1677,9 - 18742 $\mu\text{l}$ )	(1493,3 - 53750 $\mu\text{l}$ )

Fonte: PoloPlus, 2023

A dose letal para matar 50% da população de *A. aegypti* foi de 575,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . No intervalo de 90% ficou entre 415 - 898  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , enquanto no intervalo de confiança de 95% ficou entre 376,6 – 1098,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Tabela V).

Segundo MARCOLINA (2021) os OE são compostos naturais voláteis, o que significa que possuem baixo peso molecular. Dessa forma, quando expostos ao ambiente, podem facilmente passar para o estado gasoso e se dispersar no ar circundante. Durante o experimento, foi observada essa característica volátil dos óleos essenciais, uma vez que ao longo dos dias houve uma considerável diminuição na quantidade de água nos copos, assim prejudicando na locomoção das larvas.

Além disso, de acordo com ISHAK et al. (2021), os OE de várias plantas contêm substâncias tóxicas para larvas de diferentes gêneros de insetos. Essas substâncias têm a capacidade de interferir nos sistemas respiratório, digestivo, metabólico e comportamental dos insetos. No experimento, foi observado que nas concentrações mais altas ocorria uma dificuldade de locomoção das larvas. Com o passar das horas, as concentrações mais elevadas formavam uma película invisível que prejudicava o movimento das larvas e prendia seu sifão, prejudicando a respiração.

SPRICIGO et al. (2023) relataram que *E. pyriformis* possui um perfil volátil que inclui a identificação de 59 compostos, com predominância de monoterpenos e sesquiterpenos e, STIEVEN et al., 2009 chamaram a atenção para dois componentes específicos, o limoneno (monoterpeno) e o óxido de cariofileno (sesquiterpeno), que não são comumente encontrados em espécies da família Myrtaceae. FURTADO et al. (2005) relataram em seu estudo a ação larvicida de óleos contendo limoneno contra *A. aegypti*. Por sua vez, SILVA et al. (2006) demonstraram em suas pesquisas a atividade larvicida do óxido de cariofileno contra *A. aegypti*. Portanto, o uso do OE de uvaia como larvicida pode ter uma vantagem devido a essa característica incomum em sua composição, em comparação com outras espécies de sua família.

Nos estudos de Silva et al. (2021) foi observada a atividade larvicida sobre *A. aegypti* com o OE de *Eugenia calycina*, resultando em uma DL50 de 166,4 µg/mL. Agora de acordo com as pesquisas de Govindarajan et al. (2016) mostraram que a *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) possui uma DL50 de 90,45 µg/mL contra larvas de *A. albopictus*.

Além disso, a pesquisa de Mendes et al. (2017), mostrou que *E. melanadenia* apresentou uma DL50 de 85 µg/mL, *E. piauiensis* uma DL50 de 230 µg/mL e *E. triquetra* uma DL50 de 64,8 µg/mL. Os estudos de Mahran, 2022 revelaram que o óleo essencial de *S. aromaticum*, também da família Myrtaceae, possui uma DL50 de 394 µg/mL no intervalo de confiança de 95%.

Quando comparados com a DL50 de *E. pyriformis* que é 575,6 µg/mL, os resultados indicam que o seu OE possui um menor potencial larvicida. Isso ocorre porque, nos diferentes

estudos, o critério de referência para um OE ser considerado forte e eficaz como larvicida é ter uma DL50 abaixo de 100 µg/mL. Além disso, o único OE que tem uma DL50 acima de *E. pyriformis* é o de *S. aromaticum*, com uma DL50 de 394 µg/mL no intervalo de confiança de 95%, enquanto *E. pyriformis* tem uma DL50 de 376,6 µg/mL no intervalo de confiança de 95%. No entanto, uma vez que as duas DL50 estão acima de 100 µg/mL, o potencial larvicida de ambas pode ser considerado baixo.

Além de *E. pyriformis*, os únicos óleos essenciais do gênero *Eugenia* que também foram considerados fracos em termos de potencial larvicida foram o OE de *E. piauiensis* e o de *E. calycina*, com uma DL50 de 230 µg/mL e 166,4 µg/mL, respectivamente.

Embora o OE de *E. pyriformis* tenha causado prejuízos às larvas como em sua movimentação e respiração, quando ele é comparado aos estudos relacionados aos diferentes óleos essenciais de seu gênero e família, verificou-se que *E. pyriformis* apresenta um efeito larvicida baixo, exigindo concentrações maiores para eliminar as larvas. Porém o índice de mortalidade das larvas condiz com as concentrações em que elas estavam inseridas, mostrando assim um efeito tóxico desse óleo essencial.

## 6 CONCLUSÃO

- O OE de *E. pyriformis* mostrou-se ter um potencial tóxico, uma vez que as concentrações condizem com o número de mortalidade. Quanto maior a concentração, maior era o número de larvas mortas.
- O OE apresentou um rendimento de 0,093%, o qual se mostrou alto em relação à massa vegetal utilizada.
- A DL50 das larvas de *A. aegypti* foi de 575,6 µg/mL, revelando-se um valor acima do esperado indicando assim, um potencial tóxico abaixo do previsto.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, Filipe Vieira Santos de et al. Influence of breeding site availability on the oviposition behaviour of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 669-676, 2015.
- ANJOLETTE, Aline Falcão Filgueiras; DA GRAÇA MACORIS, Maria de Lourdes. Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 13, n. 156, p. 19-29, 2016.
- ARAÚJO, Helena Rocha Corrêa de et al. Caracterização morfológica dos hemócitos do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus* e a resposta imune dos hemócitos do *Aedes aegypti* após a infecção pelo Dengue virus. 2011. **Tese de Doutorado**.
- ARMSTRONG, Lorene; DUARTE, Márcia do Rocio; MIGUEL, Obdulio Gomes. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 475-481, 2012.
- ARSHAD, Fiza et al. RNAi by soaking *Aedes aegypti* pupae in dsRNA. **Insects**, v. 12, n. 7, p. 634, 2021.
- AZAMBUJA, Wagner. Óleos essenciais: Métodos de extração de óleos essenciais. <http://oleosessenciais.org/tag/safrol/>. Acesso em, v. 21, p. 12, 2011.
- BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BAR, Ananya; ANDREW, J. Morphology and morphometry of *Aedes aegypti* larvae. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1-21, 2013.
- BEZERRA, JEF; DE LIRA JUNIOR, J. S.; DA SILVA JUNIOR, J. F. *Eugenia uniflora*: pitanga. 2018.
- CAVALCANTI, Luciano Pamplona de Góes; OLIVEIRA, Rhaquel de Moraes Alves Barbosa; ALENCAR, Carlos Henrique. Changes in infestation sites of female *Aedes aegypti* in Northeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 498-501, 2016.
- Clemons, A., Haugen, M., Flannery, E., Tomchaney, M., Kast, K., Jacowski, C., ... & Lea, A. (2010). Rapid determination of *Aedes aegypti* mosquito vector competence for Zika virus. **Virology**, 503, 50-55.

CLEMONS, Anthony et al. *Aedes aegypti*: an emerging model for vector mosquito development. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2010, n. 10, p. pdb. emo141, 2010.

Consoli RAGB, Oliveira RL. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: **FIOCRUZ**; 1994.

COSTA, S. A. et al. Manual para criação dos dípteros de importância médico veterinário: *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*. 2021.

COURTNEY, Gregory W. et al. Biodiversity of diptera. *Insect biodiversity: science and society*, p. 229-278, 2017.

DA SILVA, Aline Priscilla Gomes et al. Chemical composition, bioactive compounds, and perspectives for the industrial formulation of health products from uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess–Myrtaceae): A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, p. 104500, 2022.

DE ALMEIDA, A. Paulo GOUVEIA. Os mosquitos (Diptera, Culicidae) e a sua importância médica em Portugal: desafios para o século XXI. **Acta Médica Portuguesa**, v. 24, n. 6, p. 961-74, 2011.

DE BRITO ARDUINO, Marylene; DE ÁVILA, Gabriela de Oliveira. Aspectos físico-químicos da água de criadouros de *Aedes aegypti* em ambiente urbano e as implicações para o controle da dengue. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 44, n. 1, p. 89-100, 2015.

DE MENEZES FILHO, Antonio Carlos Pereira. *Eugenia pyriformis* “uvaia”: descrição, fitoquímica e usos na fitomedicina e nutrição. **Scientia Naturalis**, v. 3, n. 1, 2021.

DE PAULO FARIAS, D.; NERI-NUMA, I. A.; DE ARAUJO, F. F.; PASTORE, G. M. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. **Food Chemistry**, v. 306, n., p. 125630, 2020.

DE SOUZA, João H. et al. Leishmanicidal, Trypanocidal and Antioxidant Activity of Amyrin-Rich Extracts from *Eugenia pyriformis* Cambess. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, v. 19, n. 4, p. 343, 2020.

DILANI, Padukka Vidanelage Desha et al. Hemocup blood feeder: An affordable and simplified blood-feeding device for maintenance of *Aedes aegypti* mosquito colonies in Sri Lanka. **Experimental Parasitology**, v. 249, p. 108518, 2023.

DOS SANTOS, Danillo Menezes; COSTA, Jamile Santos; MELO, Cláudia Moura. Influência do pH da água no desenvolvimento das formas imaturas do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

DURANT, Andrea C. et al. The transcriptome of anal papillae of *Aedes aegypti* reveals their importance in xenobiotic detoxification and adds significant knowledge on ion, water and ammonia transport mechanisms. **Journal of Insect Physiology**, v. 132, p. 104269, 2021.

E SILVA, Lucas Henrique da Silva et al. Description of the mitogenome and phylogeny of *Aedes* spp.(Diptera: Culicidae) from the Amazon region. **Acta Tropica**, v. 232, p. 106500, 2022.

Facchinelli, L., Badolo, A., & McCall, P. J. (2023). A review of the biology and control of *Aedes aegypti* in Africa. **Parasites & Vectors**, 16(1), 1-14.

Forattini, O. P. (2002). *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia* (Vol. 2). **Editora da Universidade de São Paulo**.

FÜLLER, Thanise Nogueira. Caracterização fenotípica, fitoquímica e molecular de populações de *Elionurus* sp. Humb. & Bompl ex Willd (capim-limão). 2008.

FURTADO, Roselayne F. et al. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 843-847, 2005.

GEISER, Dawn L. et al. *Aedes aegypti* ferritin: a cytotoxic protector against iron and oxidative challenge?. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, n. 18, p. 3667-3674, 2003.

GOMES, CÉSAR RONALD PEREIRA. ESTRATÉGIAS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE LARAVAS DE MOSQUITO *Aedes aegypti* COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-Campos dos Goytacazes, 2009.

GOVINDARAJAN, Marimuthu et al. Curzerene, trans- $\beta$ -elemenone, and  $\gamma$ -elemene as effective larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus*: toxicity on non-target aquatic predators. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 10272-10282, 2018.

GUNATHILAKA, Nayana et al. Effect of larval nutritional regimes on morphometry and vectorial capacity of *Aedes aegypti* for dengue transmission. *BioMed Research*

Harker, J. E., Chan, K., & Russell, R. C. (2013). The biology of mosquitoes. **Insect physiology and biochemistry** (pp. 281-324). CRC Press.

HERCULANO, Pedro Henrique. Manutenção de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: culicidae) em condições de laboratório: uma revisão sistemática. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ISHAK, Hasanuddin et al. Essential oil as a new tool for larvicidal *Aedes aegypti*: A systematic review. **Gaceta Sanitaria**, v. 35, p. S459-S462, 2021.

KLEIN, Elissandro Jair et al. Use of supercritical CO<sub>2</sub> and ultrasound-assisted extractions to obtain  $\alpha/\beta$ -amyrin-rich extracts from uvaia leaves (*Eugenia pyriformis* Cambess.). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 1-8, 2018.

- Levi, T., Ben-David, E., & Arad, Z. (2014). Mosquito pupae in water: phototactic responses and their ecological significance. **Journal of Medical Entomology**, 51(4), 822-828.
- LUZ, Tássio Rômulo Silva Araújo et al. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. **Acta Tropica**, v. 212, p. 105705, 2020.
- MAHRAN, Hesham A. Using nanoemulsions of the essential oils of a selection of medicinal plants from Jazan, Saudi Arabia, as a green larvicidal against *Culex pipiens*. **Plos one**, v. 17, n. 5, p. e0267150, 2022.
- MANH, Ho Dung; TUYET, Ong Thi. Larvicidal and repellent activity of *Mentha arvensis* L. essential oil against *Aedes aegypti*. **Insects**, v. 11, n. 3, p. 198, 2020.
- MARCOLINA, Marzy. *Óleos essenciais: estudo de extração e atividade antimicrobiana*. BS thesis. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2021.
- McGregor, B. L., & Connelly, C. R. (2021). A review of the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the continental United States. **Journal of medical entomology**, 58(1), 10-25.
- MCNAUGHTON, Darlene; MILLER, Emma R.; TSOURTOS, George. The importance of water typologies in lay entomologies of *Aedes aegypti* habitat, breeding and dengue risk: a study from Northern Australia. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 3, n. 2, p. 67, 2018.
- MEDEIROS, Jaqueline P. et al. Biocidal potential of *Eugenia pyriformis* essential oil in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the free-living cycle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 879-888, 2019.
- MENDES et al. Efeito larvicida em *Aedes aegypti* utilizando óleos essenciais de espécie da família myrtaceae: UMA REVISÃO DE LITERATURA. XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência - Universidade do Vale do Paraíba., 2017.
- RAO, M. Rajesh Kumar. Lethal efficacy of phytochemicals formulations derived from the leaf control Dengue and Zika vector. *Int. Res. J. Environmental Sci*, v. 9, n. 2, p. 1-9, 2019.
- RODRIGUES-ALVES, Marina Luiza et al. Historical perspective and biotechnological trends to block arboviruses transmission by controlling *Aedes aegypti* mosquitos using different approaches. **Frontiers in Medicine**, v. 7, p. 275, 2020.
- SANTANA-MARTÍNEZ, Juan C.; MOLINA, Jorge; DUSSÁN, Jenny. Asymmetrical competition between *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) coexisting in breeding sites. **Insects**, v. 8, n. 4, p. 111, 2017.
- SANTOS, Eloína et al. Oviposition activity of *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) in responseto different organic infusions. **Neotropical entomology**, v. 39, p. 299-302, 2010.

SCHAPER, Stefan; HERNÁNDEZ-CHAVARRÍA, Francisco. Scanning electron microscopy of the four larval instars of the Dengue fever vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista de biología tropical**, v. 54, n. 3, p. 847-852, 2006.

SERPA, Lígia Leandro Nunes; MONTEIRO, Simone D.; VOLTOLINI, Júlio Cesar. Efeito da água de criação larval na oviposição de *Aedes aegypti* em laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 515-517, 2008.

SGANZERLA, William Gustavo; DA SILVA, Aline Priscilla Gomes. Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess–Myrtaceae): An overview from the origin to recent developments in the food industry—A bibliometric analysis. **Journal of Agriculture and Food Research**, p. 100369, 2022.

SILVA, Marcus VSG et al. Essential oil from leaves of *Eugenia calycina* Cambes: Natural larvicidal against *Aedes aegypti*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 3, p. 1202-1208, 2021.

SILVA, Wellington José da et al. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006.

SILVEIRA, Jeniffer Cristina et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, 2012.

SOGHIGIAN, John et al. Genetic evidence for the origin of *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito, in the southwestern Indian Ocean. **Molecular Ecology**, v. 29, n. 19, p. 3593-3606, 2020.

SPRICIGO, Poliana Cristina et al. Quality Attributes and Metabolic Profiles of Uvaia (*Eugenia pyriformis*), a Native Brazilian Atlantic Forest Fruit. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1881, 2023.

STIEVEN, Ana Carla; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, Cristina Ferraz. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, p. 7-16, 2009.

Técnicas, Normas, and Combate ao Vetor. "FUNASA."

WIŃSKA, Katarzyna et al. Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2130, 2019.

WOHL, Margot P.; MCMENIMAN, Conor J. Batch rearing *Aedes aegypti*. **Cold Spring Harbor Protocols**, 2022.

Wu, K., Hoy, M. A., & Ma, J. (2006). An overview of insecticide resistance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the United States. **Journal of Medical Entomology**, 43(5), 917-925.