



**Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

RICHARD DIAS POSSEL

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE PLANTAS DO CERRADO
NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti*.**

**GURUPI - TO
2019**



**Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

RICHARD DIAS POSSEL

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE PLANTAS DO CERRADO
NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar.

Coorientador: Prof^ª. Dr^ª. Talita Pereira de Souza Ferreira.

**GURUPI - TO
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

P856a Possel, Richard Dias.

Atividade inseticida e repelente de plantas do cerrado no controle alternativo do mosquito *Aedes aegypti*. / Richard Dias Possel. – Gurupi, TO, 2019.

113 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Biotecnologia, 2019.

Orientador: Raimundo Wagner de Souza Aguiar

Coorientadora : Talita Pereira de Souza Ferreira

1. *Aedes aegypti*. 2. Controle Alternativo. 3. Inseticida Natural. 4. Sinergismo. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).




RICHARD DIAS POSSEL

Atividade larvicida e repelente de plantas do cerrado no controle alternativo do mosquito *Aedes aegypti*.

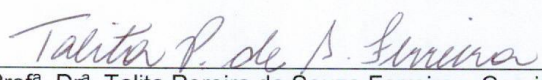
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em 18/04/2019 foi julgada adequada para a obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data da aprovação: 18/04/2019.

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar – Orientador - UFT


Prof. Dr. Taciano Peres Ferreira – Examinador - UFT


Profª. Drª. Talita Pereira de Souza Ferreira – Coorientadora – UFT

Gurupi (TO).
2019.

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, autor genuíno da vida, por ter me dado toda a saúde, vida, força e perseverança necessária para vencer esses dois anos com muita fé em dias melhores. Sou grato pelo dom da fé e em ser teu servo Senhor.

A minha família, em especial minha avó Antônia Lenira que é meu exemplo de vida. Principalmente devo minha vida e cada parte desse trajeto a minha mãe Kátia Keila, ela é a mulher mais preciosa da minha vida, que lutou desde o meu primeiro suspiro sozinha, te amo muito mãe. Ao meu Padastro Raimundo por ter me fornecido suporte e apoio até hoje, fico muito feliz de poder dizer que eu tive um pai, mesmo que não sendo de sangue, você foi o melhor.

Agradeço também em todo esse percurso a Talita Ferreira, obrigado por ter me apoiado tanto e ter me mostrado que posso ser capaz de tudo. A Dalmarcia por toda ajuda no laboratório quando precisei. Aos meus amigos que ficaram até o fim me auxiliando e dando força pra continuar e a Patrícia Verdugo Pascoal que foi uma benção para a finalização dos resultados.

Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, por toda ajuda financeira.

Obrigado a todos vocês.

Dedico ao grande pai Oxalá, ao qual nunca me desamparou. A minha mãe, família e amigos. Amo todos vocês!

POSSEL, Richard Dias. **ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE PLANTAS DO CERRADO NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti***. 2019. 109f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2019.

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor central de transmissão da dengue e da febre amarela. A maioria da população mundial habita em países onde a incidência de dengue é alta, apresentando maior número de casos com óbito. Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular, alguns óleos essenciais ainda podem agir como sinergistas, podendo proporcionar redução da quantidade de óleo a ser aplicada para o controle de determinada praga, o que diminuiria os custos com o manejo e os riscos ao meio ambiente. Visto as informações, objetivou - se avaliar os efeitos do óleo essencial isolado de *Hyptis irregularis* e pela metodologia de proporções sinérgicas com a junção dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* e *Morinda citrifolia* frente às larvas de 3º instar e mosquitos adultos do vetor *Ae. aegypti*. Foram utilizadas larvas e mosquitos da criação do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi-TO. A composição química do óleo foi determinada através da técnica de Cromatografia gasosa/espectrômetro de massas (GS/MS). Para todos os testes isolados foram aplicadas concentrações que variaram de 0,007 a 0,13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, já para o sinergismo foram elaboradas proporções utilizando 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ do óleo essencial como base. Assim, a interação sinérgica possível com melhores resultados em todos os bioensaios foi à proporção 1:1 utilizando *H.irregularis* x *M. citrifolia*. Para o teste larvicida foi denotado CL_{50} 0,037 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e CL_{95} 0,122 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, já utilizando a sinergia CL_{50} 0,039 e CL_{95} 0,119. No bioensaio de oviposição observou-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada (0,2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos para *H. irregularis* isolado e 20 ovos com o sinergismo, quando comparado com os testes sem tratamento. Outrossim, a ação do óleo de *H. irregularis* evidenciou melhores resultados tanto com o óleo essencial isolado quanto pela interação das concentrações dos óleos do que o N, N-dietil-m-toluamida em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos.

Palavras-Chaves: *Aedes aegypti*, Controle Alternativo, Inseticida Natural, Sinergismo.

POSSEL, Richard Dias. **INSECTICIDE AND REPELLENT ACTIVITY OF CLOSED PLANTS IN THE ALTERNATIVE CONTROL OF MOSQUITO *Aedes aegypti***. 2019. 109f. Dissertation (Master in Biotechnology) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2019.

ABSTRACT

The mosquito *Aedes aegypti* is the central vector of transmission of dengue fever and yellow fever. The majority of the world population lives in countries where the incidence of dengue fever is high, presenting a higher number of cases with death. Essential oils are complex mixtures of low molecular weight volatile organic compounds, some essential oils may still act as synergists, and may provide a reduction in the amount of oil to be applied to control a particular pest, which would reduce the costs of handling and the risks to the environment. The objective of this study was to evaluate the effects of the essential oil isolated from *Hypenia irregularis* and the synergistic proportions methodology with the combination of the essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* and *Morinda citrifolia*, against 3rd instar larvae and adult mosquitoes of the vector *Ae. aegypti*. Larvae and mosquitoes were used to create the Integrated Pest Management Laboratory of the Federal University of Tocantins, Gurupi-TO Campus. The chemical composition of the oil was determined using the Gas Chromatography / Mass Spectrometer (GS / MS) technique. Concentrations ranging from 0.007 to 0.13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ were applied for all the isolated tests, whereas for the synergism proportions were prepared using 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ of the essential oil as base. Thus, the best possible synergistic interaction with all bioassays was 1: 1 using *H.irregularis* x *M. citrifolia*. For the larvicidal test LC_{50} was denoted 0.037 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ and LC_{95} was 0.112 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, already using synergy LC_{50} 0.039 and LC_{95} 0.119. In the oviposition bioassay it was observed that the higher the concentration of essential oil used (0.2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$), the lower the number of eggs deposited, the less than 50 eggs for *H. irregularis* isolated and 20 eggs with the synergism, when compared to untreated tests. Also, the action of *H. irregularis* oil showed better results with both the isolated essential oil and the interaction of the concentrations of the oils than N, N-diethyl-m-toluamide in 135 minutes of exposure to the females of the mosquitoes.

Keywords: *Aedes aegypti*; alternative Control; natural Insecticide; synergism.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. PORCENTAGEM RELATIVA (ÁREA %), OBTIDA POR CROMATOGRAFIA À GÁS ACOPLADA A DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS, DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS SECAS DE <i>H. IRREGULARIS</i>	42
TABELA 2. VALORES DE CL ₅₀ E CL ₉₅ DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>A. DO CERRADO</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	44
TABELA 3. VALORES DE TL ₅₀ E TL ₉₅ DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>A. DO CERRADO</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	45
TABELA 4. VALORES DAS PROPORÇÕES DA INTERAÇÃO SINÉRGICA PROPORCIONAIS A CADA ÓLEO ESSENCIAL.	60
TABELA 5. PROPORÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL MEDIANTE AS CONCENTRAÇÕES CONTRA MOSQUITOS DE <i>AE. AEGYPTI</i>	61
TABELA 6. PORCENTAGEM RELATIVA (ÁREA %), OBTIDA POR CROMATOGRAFIA À GÁS ACOPLADA A DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS DOS CONSTITUINTES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS SECAS DE <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>M. CITRIFOLIA</i>	66
TABELA 7. PORCENTAGEM RELATIVA (ÁREA %), OBTIDA POR CROMATOGRAFIA À GÁS ACOPLADA A DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS, DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS SECAS DE <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>H. CRENATA</i>	67
TABELA 8. PORCENTAGEM RELATIVA (ÁREA %), OBTIDA POR CROMATOGRAFIA À GÁS ACOPLADA A DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS, DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS SECAS DE <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>C. CITRATUS</i>	68
TABELA 9. VALORES DE CL ₅₀ E CL ₉₅ DOS ÓLEOS ESSENCIAIS ANALISADOS CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	69
TABELA 10. VALORES DE TL ₅₀ E TL ₉₅ DOS ÓLEOS ESSENCIAIS ANALISADOS CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	70
TABELA 11. VALORES DE CL ₅₀ E CL ₉₅ DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PELO TESTE DE SINERGISMO CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	72
TABELA 12. VALORES DE TL ₅₀ E TL ₉₅ DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PELO TESTE DE SINERGISMO CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DO <i>AE. AEGYPTI</i>	75

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. <i>HYPENIA IRREGULARIS</i>	18
FIGURA 2. PLANTA (A), FRUTOS (B) E FLORES (C) DE <i>M. CITRIFOLIA</i> , RESPECTIVAMENTE.....	20
FIGURA 3. <i>HYPTIS CRENATA</i> – VEREDA.....	21
FIGURA 4. <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> – CAPIM LIMÃO.....	22
FIGURA 5. APARELHO DO TIPO CLEVINGER MODIFICADO.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
FIGURA 6. INÍCIO DOS TESTES DE REPELÊNCIA DE CONTROLE POSITIVO E NEGATIVO.....	38
FIGURA 7. ATIVIDADE PROTETORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS SECAS DE <i>H. IRREGULARIS</i> CONTRA MOSQUITOS ADULTOS DE <i>AE. AEGYPTI</i>	46
FIGURA 8. MÉDIA DE OVIPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>H. IRREGULARIS</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>AE. AEGYPTI</i>	47
FIGURA 9. APARELHO DO TIPO CLEVINGER MODIFICADO.....	58
FIGURA 10. TESTE DE REPELÊNCIA COM AS CONCENTRAÇÕES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	62
FIGURA 11. ATIVIDADE PROTETORA (REPELENTE) DOS ÓLEOS ESSENCIAIS: A) <i>H. IRREGULARIS</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i> ; B) <i>M. CITRIFOLIA</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i> ; C) <i>H. CRENATA</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i> E; D) <i>C. CITRATUS</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i>	78
FIGURA 12. ATIVIDADE PROTETORA DO SINERGISMO 1:1 ENTRE OS ÓLEOS ESSENCIAIS: A) <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i> ; B) <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>H. CRENATA</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i> E; C) <i>H. IRREGULARIS</i> X <i>C. CITRATUS</i> CONTRA <i>AE. AEGYPTI</i>	79
FIGURA 13. MÉDIA DE OVIPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS: A) <i>HYPENIA IRREGULARIS</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i> ; B) <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i> ; C) <i>H. CRENATA</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i> E; D) <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i>	81
FIGURA 14. MÉDIA DE OVIPOSIÇÃO PELO TESTE DE SINERGISMO ENTRE OS ÓLEOS ESSENCIAIS: A) <i>HYPENIA IRREGULARIS</i> X <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i> ; B) <i>HYPENIA IRREGULARIS</i> X <i>HYPTIS CRENATA</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i> E; C) <i>HYPENIA IRREGULARIS</i> X <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> CONTRA LARVAS DE 3º INSTAR DE <i>A. AEGYPTI</i>	82

INTRODUÇÃO GERAL

A saúde pública em diversas regiões tanto tropicais quanto subtropicais do planeta padece há muitos anos com a epidemia do vírus da dengue. Ao decorrer dos anos tem-se realizado estudos e projetos minuciosos para controlar e/ou amenizar o problema, porém ainda é uma situação preocupante a nível mundial. O mosquito foi descrito cientificamente pela primeira vez em 1762, quando foi denominado *Culex aegypti*, o nome definitivo – *Aedes aegypti* – foi estabelecido em 1818, após a descrição do gênero *Aedes*. (IOC/FIOCRUZ, 2009).

Grande maioria da população mundial habita em países onde a incidência de dengue é alta, sendo que a cada ano é estimado a ocorrência entre 50 e 100 milhões de infecções (OMS, 2012), em relação ao Brasil em 2016, segundo o Ministério da Saúde (2019), foram registrados 1.438.624 casos prováveis de dengue até a Semana Epidemiológica (SE) sendo estes todos os casos notificados, exceto os já descartados. Os mosquitos vetores dessa doença, o *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus*, são altamente adaptados às dinâmicas sociais e ao ambiente das cidades, o que faz da dengue uma enfermidade típica de áreas urbanas com características específicas. (JOHANSEN et al., 2014).

Atualmente, a forma de combate mais comum ao mosquito é o uso de inseticidas sintéticos, relacionados a compostos organofosforados e piretróides ou até mesmo outras composições, sendo altamente tóxicos a saúde. O consumo frequente, intensivo e em doses cada vez maiores desses produtos evidenciam os principais problemas quanto ao uso de inseticidas, acarretando em populações de mosquitos resistentes a esses produtos, alterando o ciclo cronológico do ambiente e podendo atingir diretamente espécies que corroboram com o equilíbrio ambiental, trazendo efeitos adversos. (LUNA et al., 2013; OMS, 2010).

Devido à grande diversidade botânica em prospecção, existem inúmeras plantas detentoras de atividade inseticida, o que corrobora para uma maior investigação e introdução destas, como opção no controle integrado de pragas (ROEL et al., 2000). A atividade inseticida nas plantas é referida à presença de substâncias bioativas, que em resposta ofensiva, acionam as diferentes estruturas químicas com diversas atividades contra insetos (KWEKA et al., 2008).

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular formados principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos e

fenilpropanóides. (CAMPOS et al., 2012). As espécies de plantas com óleos essenciais em quantidades relativas são denominadas de plantas aromáticas. Os óleos são localizados, nas plantas, em células diferenciadas como as células secretoras externas e internas. Todas as estruturas secretoras externas são da epiderme e suas modificações, pelos glandulares ou tricomas excretores. (ABREU 2006; SCRAMIN, 2000).

Alguns óleos essenciais podem agir como sinergistas, atuando nos processos de detoxificação dos insetos, onde as misturas binárias dos óleos aumentaram a toxicidade dos mesmos. O efeito sinérgico pode proporcionar redução da quantidade de óleo a ser aplicada para o controle de determinada praga, o que diminuiria os custos com o manejo e os riscos ao meio ambiente. (ARAÚJO, 2014).

O sinergismo é definido como uma resposta em que a associação de substâncias, medicamentos ou moléculas resulta em maiores reações frente aos efeitos da substância, medicamento ou molécula utilizada isoladamente. No sinergismo, tais substâncias podem apresentar o mesmo mecanismo de ação, porém, atuando em diferentes vias ou receptores farmacológicos distintos (GONÇALVES, 2014).

Nazzaro et al., (2013) deduz que, visando o óleo essencial existem diferentes grupos de compostos químicos presentes, dessa forma é característico que sua atividade antibacteriana não seja apenas atribuída a um mecanismo específico, mas sim a outros constituintes alvos na célula.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a atividade repelente e inseticida do óleo essencial isolado e sinergicamente de *H. irregularis* contra larvas e mosquitos de *Ae. aegypti*, tendo ainda como objetivos específicos: (1) efetuar a coleta dos materiais vegetais das espécies em pesquisa; (2) Extrair os óleos essenciais das folhas de *Hyponia irregularis*, *Hyptis crenata*, *Cymbopogon citratus* e frutos de *Morinda citrifolia*; (3) Avaliar a atividade isolada e sinérgica dos óleos essenciais contra as larvas de 3º instar do mosquito *Ae. aegypti*; (4) Avaliar a atividade isolada e sinérgica de repelência dos óleos essenciais contra os mosquitos adultos de *Ae. aegypti*; (5) Avaliar a atividade isolada e sinérgica de oviposição dos óleos essenciais frente a mosquitos adultos de *Ae. aegypti*; (6) Identificar os compostos químicos dos óleos essenciais através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS).

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. *Aedes aegypti*: Controle, combate e resistência.

A espécie *A. aegypti* tem manifestação em todo o mundo, embora existam variações edafoclimáticas. Sua adequação pode ser atribuída a consequentes fatores da evolução humana, e seu ressurgimento são conferidos a sua fácil adaptação (HALES et al., 2002; JANSEN; BEEBE, 2010).

O agente etiológico está co-relacionado com um vírus RNA, sendo Arbovírus do gênero flavivírus, pertencentes à família *Flaviviridae*, onde são conhecidos quatro sorotipos: DENV 1, DENV 2, DENV 3 E DENV 4. (PORTAL DA SAÚDE, 2019). O mosquito adquire o vírus quando se alimenta de um hospedeiro em estado de viremia, o sangue contaminado prolifera o vírus que se encontra nas glândulas salivares do transmissor e conserva por toda a vida do mosquito. A fêmea com o vírus tem a capacidade de injetar em pessoas saudáveis através de um processo adjacente de babugem e picada através desse contato o vírus penetra nas células para replicação de genitores e consequentemente ocorre a disseminação pelo corpo (JANSEN; BEEBE, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE (2019).

O mosquito mede menos que 1 centímetro, com cor preta e listras esbranquiçadas em todo o corpo e patas, sendo habitual de ambientes domiciliares. O desenvolvimento da espécie ocorre em quatro estágios: ovos, larvas, pupas e adultos, sendo que na ovoposição as fêmeas do gênero *Aedes* depositam seus ovos fora do meio líquido, de maneira que as larvas entrem em contato com a água facilmente após a eclosão dos ovos. Um dos grandes problemas na contenção do mosquito é a viabilidade dos ovos, que são resistentes à dessecação (LUZ et al., 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Em sua fase adulta, o vetor é responsável pela dispersão da espécie e reprodução, apesar de que a disseminação de ovos e larvas ocorra de modo passivo, com bastante relevância em relação ao ativo biológico da espécie (JANSEN; BEEBE, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Nessa fase o mosquito apresenta características diferentes entre o gênero, o macho com antenas maiores e plumosas e papo mais longo que o da fêmea. Ambos se alimentam de seiva e néctares, porém devido à fêmea por ovos necessitam de uma fonte de proteína, o sangue. O sangue é essencial para a

vitalidade dos ovos, sendo que é responsável pela maturação que só acontece devido à presença da hemoglobina no sangue (DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

O inseto, após contato com o hospedeiro, implanta o vírus que se desenvolve em sintomas físicos, inicialmente com febre alta, dores musculares e nas articulações, surgimento de manchas vermelhas sobre o corpo, dores de cabeça, náuseas, diarreia e vômitos. Uma das grandes preocupações do controle da epidemia estão relacionadas à evolução do vírus no hospedeiro para a dengue hemorrágica, uma das formas mais agressivas da doença, podendo ser fatal, o que torna mais complexo a contenção do problema (PEREIRA et al., 2014).

No domínio da OMS (2010), os procedimentos de contenção vetorial, em destaque o combate dos mosquitos, estão atrelados em particular ao uso do controle biológico e o controle químico. Integrado com o manejo ambiental, tais métodos usualmente apresentam efetividade frente o estágio larval e fase adulta do inseto. Embora haja pesquisas e formulações de vacinas, sua disponibilidade ainda é remota, o que torna imprescindível o controle de vetores, sendo que os medicamentos atuais não asseguram total prevenção de doenças originárias da transmissão do mosquito (BRAGA; VALLE, 2007c; TORRES et al., 2014)

Entretanto, a sua persistência pós aplicação cogita na resistência adquirida, baseada na fisiologia refratária; onde o mosquito desenvolve sobre extrema pressão seletiva o mecanismo de desintoxicação (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; BRAGA; VALLE, 2007c). Outro destaque é a inclusão de produtos não biodegradáveis, que serve de suporte de possíveis criadouros, como também de material de transporte, o que sugere subsídios a migração do mosquito em todo o mundo (PEREIRA et al., 2014). O que intensifica a investigação de compostos de base natural, onde seus efeitos toxicológicos agem como regulador inibitório de mecanismos resistentes (ROSA, 2016).

2. Uso de repelentes nos dias atuais

Por definição, repelentes são substâncias que atuam localmente ou numa distância, impedindo um artrópode de voar para aterrissar ou picar a pele humana ou animal (ou uma superfície em geral). Normalmente, repelentes de insetos funcionam fornecendo uma barreira de vapor que impede que o artrópode entre em contato com a superfície (NERIO et al., 2010).

Destaca-se que há várias características que tornam um composto como sendo repelente, porém a sua ação é influenciada por fatores individuais de cada indivíduo, tal como idade, sexo, umidade, odor, clima e alimentação. Todas essas características interferem na transpiração e, conseqüentemente na ação repelente dos produtos utilizados (STEFANI et al., 2009). Em geral, cada repelente possui um modo de ação. Além disso, diferentes espécies de artrópodes podem reagir diferentemente a um mesmo repelente, e um mesmo repelente pode agir de forma diferente dependendo da concentração, podendo evaporar e metabolizar diferentemente (ANDRADE, 2008).

Os repelentes podem ser sintéticos ou naturais, e atuam formando uma camada de vapor com odor repulsivo aos insetos. Há diversos repelentes sintéticos, dentre eles podem ser citados o DEET (N,N-dietil-m-toluamida) que possui diversas formulações, desde cremes a loções e aerossóis, que são aplicadas diretamente na pele humana para repelir insetos em vez de matá-los. Contudo, apesar da ação repelente ser eficaz, tal repelente pode ser tóxico para crianças e adultos. Esse é o perfil dos repelentes químicos, que apesar de garantirem alta ação contra insetos, não garantem total segurança à saúde humana acarretando riscos para a pele e para o sistema nervoso. Tais problemas intensificam a busca por compostos naturais com ação repelente, que sejam seguros e sustentáveis (STEFANI et al., 2009; SOONWERA e PHASOMKUSOLSIL, 2015). Outros princípios ativos sintéticos que podem ser citados são: DMP (dimetilftalato), EHD ou RUTGERS 612 (etilhexanodiol), IR3535, DEPA, indalona, MGK e também misturas destes (ANDRADE, 2008).

Recentemente, produtos repelentes comerciais que contêm ingredientes à base de plantas, ganharam popularidade crescente entre os consumidores, já que são geralmente considerados por estes como "seguro" em comparação com repelentes sintéticos, apesar de ser um inequívoco muitas vezes. Destaca-se que há uma necessidade de mais estudos padronizados, a fim de avaliar compostos com melhor ação repelente e desenvolver novos produtos que ofereçam alta repelência, e que garantam a segurança do consumidor. Nesse sentido a busca por plantas com ação repelente é de

grande valia, por se caracterizar como sendo natural, que conseqüentemente possui maior aceitação pelos consumidores (MAIA e MOORE, 2011).

Os óleos naturais extraídos de diversas plantas são os mais antigos repelentes conhecidos, os quais são extraídos de ervas, frutas cítricas, citronela, coco, soja, eucalipto, cedro e hortelã. Há diversos estudos para avaliar a ação repelente das plantas, tais como *Glycinemax* (óleo de soja), *Cymbopogon nardus* (óleo de citronela), *Carapa guianensis* (óleo de andiroba) e *Eucalyptus citriodora* (óleo de eucalipto-limão). Este último teve seu princípio ativo isolado recentemente (p-menthane-3,8-diol: PMD) purificado e em misturas mostraram possuir ação repelente e duradoura (STEFANI et al., 2009). Soonwera e Phasomkusolsil (2015) estudaram o efeito repelente de *Canangaodorata* (Lamk.; Hook.f. & Thomson: Annonaceae) e de *Cymbopogon citratus* (DC.; Stapf: Poaceae) contra dois mosquitos vetores de doenças (*Ae. aegypti* e *C. quinquefasciatus*). Ambos apresentaram maior atividade repelente, apesar de ser inferior ao encontrado no DEET (repelente sintético), mas tendo ação protetora superior a este químico, evidenciando o potencial dessas espécies vegetais para utilização como repelente.

O uso de outros produtos naturais na mistura, tal como vanilina, poderia aumentar o tempo de proteção, potencializando o efeito repelente de alguns óleos essenciais. Entre os gêneros de plantas com óleos essenciais promissores utilizados como repelentes, *Cymbopogon* spp., *Ocimum* spp. e *Eucalyptus* spp. são as mais citadas. Os compostos individuais presentes nessas misturas com elevada atividade repelente incluem α -pineno, limoneno, citronelol, citronelal, cânfora e timol. Embora, a partir de um ponto de vista econômico, produtos químicos sintéticos são ainda mais frequentes utilizados como repelentes do que os óleos essenciais. Os produtos naturais possuem altos potenciais de eficiência e sua repelência são mais seguras para os seres humanos e o meio ambiente (NERIO et al., 2010).

Milhares de pessoas são acometidas por doenças transmitidas por insetos, cujos mosquitos são os principais vilões, sendo responsáveis por transmitir doenças para milhões de habitantes por ano. Dentre essas doenças podem ser citadas a DENGUE, FEBRE CHIKUNGUNYA, ZIKA E FEBRE AMARELA, onde o mosquito *Ae. aegypti* é o maior vetor para todas essas enfermidades (STEFANI et al., 2009).

Repelentes são produtos de proteção individual que podem ajudar na prevenção de mosquitos, além das doenças carreadas por estes. São utilizados como métodos auxiliares para prevenir doenças transmitidas por artrópodes incluindo

malária e arboviroses. No mínimo, duas dessas doenças transmitidas por mosquitos (MALÁRIA e ZIKA) foram associadas com desfechos adversos da gravidez como perdas gestacionais, baixo peso ao nascer e defeitos congênitos graves. Os sintomas e o prognóstico da MALÁRIA, em particular a causada pelo *Plasmodium falciparum*, possuem o hábito de serem muito piores em mulheres grávidas. Recomendações para um uso seguro de repelentes com objetivo de prevenir infecções transmitidas por mosquitos *Anopheles* sp. (malária) e *Aedes* sp. (arboviroses) durante a gravidez também são encontradas, além de intensificar a busca por repelentes tão seguros para crianças e também para gestantes (PAUMGARTTEN e DELGADO, 2016).

O número de casos dessas doenças é ainda maior em países tropicais, como o Brasil, onde os vetores têm condições apropriadas para se desenvolverem (STEFANI et al., 2009). O estado do Tocantins tem sido vitimado por constantes casos de doenças cujo vetor é o mosquito *Ae. aegypti*, no qual os casos de dengue notificados em 2014 são de 8703 (BUENO & BEZERRA, 2014). Esse vetor ainda é responsável por uma doença viral recém-chegada no Brasil, A FEBRE DO CHIKUNGUNYA e ZIKA, que acomete não apenas o estado do Tocantins, mas o país como um todo, levando a buscar alternativas para o combate e prevenção dessas doenças (OLIVEIRA, 2015). Além do perigo de morte e sintomas clínicos das doenças transmitidas por insetos, há o desconforto e demais irritações causadas pela simples picada de algumas espécies de mosquito (STEFANI et al., 2009).

3. Óleos Essenciais: extração e aplicações.

Os óleos essenciais são compostos voláteis presentes em vários órgãos de plantas. São considerados óleos devido à composição lipofílica, apesar de serem quimicamente diferentes dos óleos vegetais e gorduras. E são chamadas essenciais por estarem associados a funções de defesa e atração de polinizadores nas plantas, funções essas consideradas essenciais para a sobrevivência vegetal. Resina, folha, flor, fruto e semente são órgãos nos quais acumulam essas substâncias (SIANI et al., 2001).

Quimicamente, a maioria dos óleos essenciais são terpenos, e eventualmente fenilpropanóides, e algumas moléculas pequenas como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas. Essa composição pode ser influenciada por diversos fatores, tais como métodos de extração, órgão da planta, espécie vegetal, sistema de cultivo como temperatura e umidade (SIANI et al., 2000). Os processos tradicionais empregados para obter óleos

essenciais são a hidrodestilação e extração por solventes (via laboratorial e industrial) (STEFFENS, 2010).

O óleo essencial de muitas espécies possui diversas aplicações desde a área de limpeza (desinfetantes sanitários), como alto poder germicida que pode ser explorado na área médica e odontológica (SIANI et al., 2001; BAKKALI et al., 2008), bem como repelentes (MAIA e MOORE, 2011; SOONWERA e PHASOMKUSOLSIL, 2015; KESHWAR et al., 2016). Além de vários outros efeitos anti-inflamatório, antibacteriano, e ainda para tratar hemorragias, diabetes, diarreia e infestações de vermes intestinais (GUPTA, 1995), anticonvulsivante e analgésica (TEIXEIRA et al., 1994). Estes ainda podem ser utilizados como matéria-prima, principalmente na produção de alimentos e bebidas, como aromatizantes, e com crescente utilização na área farmacêutica, particularmente na produção de cosméticos (STEFFENS, 2010; BAKKALI et al., 2008). Tais ações já são exploradas pela medicina popular há diversos anos, e vêm sendo analisados pela ciência para comprovar todos os efeitos já usados pela população.

O processo de separação desses produtos naturais bioativos corresponde a três fases principais: extração a partir da matéria vegetal, fracionamento do extrato ou óleo e purificação do princípio ativo (BARRETO et al., 2005). A composição natural dessas plantas é separada em pequenas quantidades, isto porque seu peso molecular é relativamente baixo. Entre eles estão, os alcaloides, terpenoides e derivados de fenilpropanoides, onde há uma elevada participação de terpenoides e fenilpropanoides na interação planta-inseto (LELIS, 2014).

A extração tem como definição, a retirada de forma seleta e conjunta de substâncias ou partições ativas contidas na droga vegetal, empregando, um líquido ou misturas líquidas que ofereça garantia de segurança toxicológica, em meio a tecnologias apropriadas. Ao modo que, as metodologias empregadas na extração dos óleos essenciais variam de acordo com a metodologia e região da planta que será selecionada e conseqüentemente em quais componentes se encontram. Os mais comuns são: enfloração (enfleurage), o arraste por vapor d'água, a extração com solventes orgânicos, e a prensagem e extração por CO₂ supercrítico. (OLIVEIRA, 2012; SIMÕES, 2001).

4. Biodiversidade

As plantas são composições naturais químicas formadas por metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários estão presentes em todas as células fundamentais de constituição da planta, enquanto os segundos são responsáveis pela proteção aos microrganismos e insetos predadores, conceituando as propriedades aromáticas. Sendo assim, suas características surgem como carreadores de novas formulações para aplicação no controle do *Ae. aegypti* (GARCEZ et al., 2013; OOTANI et al., 2013; PORTO et al., 2008; SPECIAN et al., 2014).

Para Brandão et al., (2013), o Brasil possui grande potencial de produção, tendo em vista sua grande biodiversidade, com diversas plantas de diferentes espécies, muitas já estudadas e outras ainda nem foram exploradas, logo isso só favoreceriam futuros experimentos em prol de recursos sustentáveis. Estes são substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas extraídas das folhas, flores, frutos, caules e raízes, com aparência oleosa à temperatura ambiente (SIMÕES & SPITZER, 2000).

Um das maiores variedades de espécies de plantas encontram-se na região do cerrado, também conhecido como o segundo maior bioma do Brasil (SOUZA et al., 2012). A diversidade da região é bastante citada pela abundância de espécies botânicas que apresentam composições de interesse farmacológico, aplicabilidade na medicina e na indústria de alimentos, visando um produto de ordem natural (KUSTER; VALE, 2016). Devido à rica diversidade de plantas existentes no cerrado, é muito encorajador explorar o potencial das plantas de cerrado para fins de controle alternativo (SOUZA et al., 2012).

Essa elevada diversidade oferta uma gama de produtos naturais variados, isso relacionado à disponibilidade de precursores e reações biossintéticas, em função de um sistema biológico (SPECIAN et al., 2014). A utilização de produtos com derivações naturais, particularmente alguns óleos essenciais e extratos, estão largamente empregados na indústria, devido a sua variante aplicação no setor, o que impulsiona a pesquisa relutante aos seus componentes químicos (OOTANI et al., 2013).

5. Sinergismo

O sinergismo é definido como uma resposta em que a associação de substâncias, medicamentos ou moléculas resulta em maiores efeitos farmacológicos frente aos efeitos da substância, medicamento ou molécula utilizada isoladamente. No sinergismo, tais substâncias podem apresentar o mesmo mecanismo de ação, porém, atuando em diferentes vias ou receptores farmacológicos distintos (GONÇALVES, 2014).

Argôlo (2014) verificou sinergismo ao testar a interação medicamentosa entre uma mistura composta por eugenol, cloranfenicol, tetraciclina e óxido de zinco e o constituinte fitoquímico citronelol contra a cepa de *Enterococcus faecalis*, com isso este sinergismo pode ser eficiente no tratamento de infecções endodônticas.

Já Issam e colaboradores (2015), investigaram a atividade antimicrobiana com o sinergismo entre o veneno de abelha e melitina, principal componente do veneno, de forma isolada ou em combinações com outras drogas antibióticas (vancomicina, oxacilina e amicacina); resultando em melhores efeitos bactericidas das drogas antibióticas. Dessa maneira, o sinergismo pode auxiliar no desenvolvimento de novas drogas contra patógenos

De forma geral, o sinergismo é considerado como uma interação positiva, a qual deve ser potencializada para garantir mais eficiência para determinada finalidade. Por outro lado, existem as interações consideradas negativas, ou seja, o antagonismo, e, dependendo de sua finalidade com substâncias misturadas, deve ser evitado. (RIETRA et al., 2017).

5.1 Sinergismo com óleos essenciais

Com o intuito de explorar novas moléculas bioativas e com efeitos colaterais limitados ou até mesmo inexistentes provenientes de fontes naturais, o uso de óleos essenciais como alternativas às terapias com moléculas sintéticas tem sido recorrente. O efeito sinérgico entre o óleo essencial de eucalipto da Tunísia (*Eucalyptus globulus* L.) combinado com antimicrobianos convencionais contra células Vero foi avaliado por Salem e colaboradores (2018), revelando que a combinação do óleo essencial de eucalipto juntamente com ampicilina foi capaz de resultar em sinergia parcial contra *Staphylococcus aureus* com resistência à metilicina. Dessa maneira, este óleo possui potencial molecular complexo que é dificilmente reconhecido por microrganismos.

Nos estudos de Andrés e colaboradores (2017), foram avaliadas as interações sinérgicas dos compostos do óleo essencial de *Piper hispidinervum* e sua atividade

nematicida contra *Meloidogyne javanica*, praga agrícola causadora de perdas econômicas. O óleo essencial foi capaz de suprimir a eclosão de ovos de nematóides e infectando o segundo estágio de desenvolvimento. Já os componentes do óleo essencial, testados de forma isolada, não foram capazes de atingir os mesmos efeitos alcançados pelo óleo essencial e sua completa composição. O sinergismo observado neste estudo foi caracterizado como a combinação da atividade nematicida e inibidor de apetite do organismo alvo.

O uso de óleos essenciais com sinergismo combinado às diversas outras substâncias ou moléculas é capaz de gerar alternativas às diversas formas de controle de microrganismos de interesse médico, agrícola, alimentar, entre outros (BAJPAI et al., 2014).

5.2 Sinergismo de óleos essenciais contra mosquitos

Atualmente, têm-se relatos do uso de óleos essenciais em sinergismo com outras moléculas capazes de causar efeitos em populações de *C. quinquefasciatus* e *Ae. aegypti*. Yuan e colaboradores (2019) estudaram a eficácia sinérgica de vários óleos essenciais combinados com o repelente dimeflutrina a fim de encontrar a melhor combinação entre o óleo de eucalipto, manjerição e óleo de canela com seus componentes naturais contra mosquitos *C. quinquefasciatus*. Dessa maneira, os três óleos essenciais combinados com dimeflutrina foram eficazes no controle destes mosquitos, mais especificamente as misturas de 1,8-cineol + eugenol (9:1, p/p), 1,8-cineol + trans-cinamaldeído (1:1, p/p) e trans-cinamaldeído + eugenol (9:1, p/p) combinado com dimeflutrina (10:1, p/p) foram as interações com maior sinergismo.

Estudos de sinergismo de óleos essenciais com efeito larvicida contra o mosquito vetor *Ae. aegypti* têm sido desenvolvidos recentemente. Óleos essenciais extraídos por hidrodestilação das flores de cravo da Índia, frutos de anis estrelado e cominho foram testados individualmente e em combinação contra larvas de *Ae. Aegypti*. Após análises cromatográficas, os principais constituintes dos óleos essenciais foram timol e terpineol para o cominho; eugenol, cariofileno no cravo da Índia, anetolol e p-anisaldeído em anis estrelado. Os resultados demonstraram que o sinergismo entre misturas binárias foi maior em cravo da Índia e anis estrelado numa proporção de 1:1 e CL_{50} de 49,07 mg/L (PANDIYAN et al., 2019).

6. ESPÉCIES VEGETAIS EM PESQUISA

6.1 *Hypenia irregularis*– Alecrim do Cerrado (Nativa do Jalapão)

O *Hypenia irregularis* (Figura 1) é uma espécie regionalmente conhecida no Jalapão como Alecrim do cerrado, pertence à família Labiatae (preferida a Lamiaceae pela sua qualidade descritiva), subfamília Nepetoideae, tribo Ocimeae, subtribo Hyptidinae. Hyptidinae é amplamente confinada na região centro-brasileira do Cerrado, é endêmica das savanas do centro e do norte da América do Sul. Apesar da grande diversidade de espécies que vivem nessas áreas, a composição do óleo essencial só é conhecida a partir de amostras de flores. (AGRA et al 2007; HARLEY et al, 1992).



Figura 1. *Hypenia irregularis*.
Fonte: Autor (2019).

As maiores partes das espécies são pequenos arbustos com partes perenes, lenhosas e acima do solo, embora várias espécies sejam como "árvores que vivem no subsolo", por White (1976). Nestas espécies, o porta-enxerto subterrâneo é maciçamente desenvolvido e os muitos brotos observados acima do solo são aparentemente distintos um do outro. Em *Hypenia*, o xilopódio é pequeno e as hastes tendem a serem poucas, muitas vezes persistindo por mais de um ano. Algumas espécies são mais arbustivas e intrincadamente ramificadas, como as *irregularis*, possuindo cálice cilíndrico reto com lóbulos simétricos. O cálice de floração em todas as três espécies tem 4 a 8 mm de comprimento e a corola é extinta de um terço do seu comprimento (ATKINSON, 1999).

Internodes abaixo da inflorescência com flor cerosa, frequentemente inchada. Tubo de cálice com bractéolas emparelhadas, geralmente inconspícuas, na base; flores em racas relaxados ou congestionados: *Hypenia*. Dos dois novos gêneros, *Hypenia* contém 24 espécies reconhecidas atualmente, embora seja provável que uma revisão do grupo reduza esse número. (HARLEY, R. M., 1988). Segundo Rudall (1979), a maioria das espécies de *Hypenia* tem partes superiores glabras do caule, geralmente com uma cobertura de cera em forma de placa, uma vez que, *H. brachystachys*, *H. irregularis* e *H. concinna* possuem folhas ovais pequenas, mais ou menos sésseis, geralmente com uma margem crenada e base cordada.

Semelhante ao gênero correlato *Hyptis*, as espécies *Hypenia* são aromáticas e endêmicas. São freqüentemente citados no Cerrado brasileiro por seu uso etnobotânico, como a infusão ou decoção de folhas no tratamento da gripe, resfriado comum e outras doenças respiratórias. (AGRA et al 2007; FARIA et al 2012). Dentro do Hyptidinae *Hypenia* está intimamente relacionado com *Eriope* e *Hyptis* e foi considerado parte deste último até a sua recente separação (HARLEY 1988a).

O óleo essencial de *H. irregularis*, possui como componentes majoritários 2,5-dimetoxi-p-cimeno, Timol, *o*-cimeno, Fenol-3-(1,1 dimetiletil)-4-metoxi e Humuleno com 26,62%; 21,36%; 15,56%; 8,89% e 5,01%, respectivamente.

6.2 *Morinda citrifolia* – Noni

Morinda citrifolia L. (Figura 2) possui porte arbustivo-arbóreo, de crescimento ereto com tamanho variando entre 3 a 10 m de altura, têm galhos angulares e com estrias, folhas elípticas e flores pequenas, brancas e tubulares. Os frutos de acordo com o estágio de maturação exalam odor forte e desagradável semelhante ao ácido butílico. Tais plantas pertencem à família Rubiaceae que é a quarta maior família botânica entre as angiospermas com 550 gêneros e 9000 espécies, das quais 2000 são encontradas no Brasil (SILVA, 2015).



Figura 2. Planta (A), frutos (B) e flores (C) de *M. citrifolia*, respectivamente.

Fonte: Lima (2015).

M. citrifolia é uma árvore pequena originada no sudeste da Ásia que se espalhou através dos trópicos para a Austrália, a Bacia do Pacífico e do Caribe. Teve seu cultivo e consumo amplamente difundido tanto por ser uma rica fonte de nutrientes e propriedades fitoterápicas como também por sua fácil adaptação e cultivo. Casca, raiz, folhas e principalmente o fruto são utilizadas há mais de 2000 anos na Polinésia pela medicina popular (SUMAN et al., 2013; SILVA, 2015; LIMA, 2015).

O principal constituinte presente nas raízes de *M. citrifolia* são isoflavonóides, flavonóides, proteínas, alcalóides, terpenóides, carboidratos e antraquinonas, que tenham sido provados ter ação antiviral, antibacteriana, atividade anticancerígena (SUMAN et al., 2013). Há relatos de que outras partes da planta possuem ação contra diversas doenças como cólica, diarreia (SUMAN et al., 2013), diabetes, hipertensão e arteriosclerose (KAMIYA et al., 2010; SUMAN et al., 2013), além de indicar atividade anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica, antitrombótica (IKEDA et al., 2009, CORREIA, 2010), antioxidante (DUSSOSSOY et al., 2011; MA, et al., 2013), antipsicótica (PANDY; NARASINGAM; MOHAMED, 2012), antimicrobiana (BRETT et al., 2012; BANERJEE et al., 2006; USHA et al., 2010) e anti-tumoral (HIRAZUMI e FURUSAWA, 1999; CLAFSHENKEL et al., 2012).

6.3 *Hyptis crenata* - Vereda

Hyptis crenata Pohl ex Benth., é uma espécie de arbusto pertencente à família Lamiaceae, nativa da Bolívia e do Brasil (Figura 3). O gênero *Hyptis* compreende quase 400 espécies pertencentes a Lamiaceae e ocorrem na América tropical. Herbácea, com folhas pecioladas, crenadas e pubescentes, flores dispostas em capítulos pedunculados. É uma planta aromática e medicinal com haste succulenta e pilosa, folhas opostodecussadas, coráceas, sésseis, elípticas, ovadas ou elíptico oblongas com 2 a 4 cm de comprimento e 1,2 a 2 cm de largura, ápice agudo ou arredondado, base arredondada ou codiforme, margem serrada, possui inflorescências axilares, capituliformes, multifloras com brácteas lanceoladas ou acuminadas, flores com cálice tubuloso e apresenta núculas oblongo-ovóides com cerca de 1 cm de comprimento. (CORRÊA 1984; NEVES, 2014; KEW SCIENCE 2019).



Figura 3. *Hyptiscrenata* – Vereda.
Fonte: <http://chaves.rcpol.org.br/eco>

H. crenata é popularmente distribuída em embocaduras do rio Amazonas, em ilhas do Marajó, Amapá, Minas Gerais e estados do Pará. É encontrada também no Pantanal. Conhecida popularmente como salva-do-marajó, hortelã-brava, salsa-do-marajó, malva-do-marajó e hortelã-docampo (POTT; POTT, 1997; NEVES et al., 200; BERTOLD et al., 2004).

Diversos estudos mostraram que as plantas medicinais são uma importante fonte de novos agentes terapêuticos para o tratamento de úlceras gástricas. No Brasil, as folhas dessa planta têm sido usadas na medicina tradicional para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, incluindo úlceras gástricas. (DINIZ et al., 2013).

Segundo Rebelo et al., (2009) o óleo essencial das folhas e ramos finos frescos e secos de *H. crenata* forneceu os seguintes rendimentos, 1,4% e 0,9%. Os constituintes voláteis principais foram α -pineno (22,0%; 19,5%), 1,8-cineol (17,6%; 23,2%), β -pineno (17,0%; 13,8%), cânfora (4,7%; 11,6%), limoneno (5,4%; 4,4%) e γ -terpineno (3,5%; 2,4%), totalizando mais de 70% nos óleos.

6.4 *Cymbopogon citratus*- Capim Limão

Descrito inicialmente como *Andropogon citratus* por De Candolle e reclassificado por Otto Stapf, *Cymbopogon citratus* (Figura 4) pertence à Poaceae (Graminae), uma das maiores famílias de plantas que engloba cerca de 500 gêneros e aproximadamente 8.000 espécies essencialmente herbáceas, denominadas genericamente de gramíneas. O nome deste gênero, *Cymbopogon*, deriva de *kymbe* (barco) e *pogon* (barba); em referência ao arranjo da sua inflorescência (espiga). (GOMES, 2003; MACHADO, 2009).



Figura 4. *Cymbopogon citratus* – Capim Limão.

Fonte: <https://www.floresefolhagens.com.br/capim-limao-cymbopogon-citratus/>

Planta herbácea, cespitosa, estolonífera, perene, que cresce cerca de 1,0 m em altura. As folhas são amplexicaule, linear-lanceoladas, áspera nas duas faces com bordo cortante. O florescimento é raro e as flores, eventualmente formadas, são estéreis.

(COUTO, 2006. Folhas moles, basais, lisas; bainhas fechadas na base e estriadas; lígula membranácea ou árida, 4-5 mm de comprimento; lâminas eretas, planas e lâminaestreita, para cima atenuada, na ponta setácea, alvacentas na facesuperior. (REITZ, 1982; GOMES, 2003).

O centro de origem desta espécie é o Sudoeste asiático e, assim como outras espécies do gênero *Cymbopogon*, encontra-se distribuída atualmente nas regiões tropicais e subtropicais. As Características organolépticas do óleo essencial são: líquido amarelo, de odor característico, sabor aromático e ardente (FARMACOPÉIA 1959; GUPTA E JAIN (1978), COSTA, 1986).

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* apresenta componentes majoritários na forma de dois isômeros que são geranial e neral, porém em pequenas quantidades podem ser encontrados citronelal, isovaleraldeído, metil-hep-tenol e ainda geraniol, nerol e mirceno. Outrossim, dependendo de alguns fatores limitantes como modo de extração, clima e temperatura outros componentes podem ser revelados em maiores percentagens, como: limoneno, aldeído C-9, metil-heptenona, citronelal, aldeído C-10, linalol, citrala, citral b e acetato de geranila. (CIGOGNA JÚNIOR et al. 1986/1987; COSTA, 1994).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M.; J. **Ethnopharmacol.** 2007, 113, 384.

ANDRADE, C.F.S., 2008. Repelentes de Mosquitos– Base Técnica para Avaliação. Artigos Técnicos para Avaliação. Artigos Técnicos UNICAMP, Inst. De Biologia , Dep.de Zoologia, Campinas, 2008. **Site Ecologia Aplicada**, 9pp. Disponível em: <http://www.ib.unicamp.com.br/profs/eco_aplicada/>. Acesso em: 10 de outubro de 2018.

ANDRÉS, M. F.; ROSSA, G. E.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; SANTANA, O.; DÍAZ, C. E.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Biocidal effects of Piper hispidinervum (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v.109, p. 1086-1092, 2017.

ARGÔLO, I. F. T. **Avaliação do sinergismo entre os componentes da pasta CTZ e o citronelol frente ao *Enterococcus faecalis***. Monografia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil, 33 p., 2014.

BAJPAI, V. K.; YOON, J. I.; BHARDWAJ, M.; KANG, S. C. Anti-listerial synergism of leaf essential oil of *Metasequoia glyptostroboides* with nisin in whole, low and skim milks. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, n. 8, p. 602-608, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK,S.; AVERBECK,D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.

BARRETO, A. G. et al. Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). **Quimica Nova**, v. 28, n. 4, p. 719–722, 2005.

BRAGA, I.; VALLE, D. *Ae. aegypti*: Vigilância, Monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiol Serv. Saúde**, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007b.

BRAGA, I.; VALLE, D. *Aedes aegypti* : histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007c.

BRETT, J. W.; STEPHEN, K. P.; SHIXIN, D.; ALFA, K. P. Antimicrobial Activity of an Iridoid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Fruit. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 52-54, 2012.

BUENO, C.; BEZERRA, P. **Sesau recomenda reforço nas ações de controle do *Aedes aegypti* para prevenção de doenças**. Disponível em:

<<http://conexaoto.com.br/2014/09/29/>> Acesso em 10 de janeiro de 2019.

CLAFSHENKEL, W. P.; KING, T. L.; KOTLARCZYK, M. P.; CLINE, J. M.; FOSTER, W. G.; DAVIS, V. L.; WITT-ENDERBY, P. A. *Morinda citrifolia* (Noni) Juice Augments Mammary Gland Differentiation and Reduces Mammary Tumor Growth in Mice Expressing the Unactivated c-erbB2 Transgene. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 15p., 2012.

CONSOLI, RAGB., OLIVEIRA, RL. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p. ISBN 85-85676-03-5. <http://books.scielo.org/id/th/pdf/consoli-9788575412909-06.pdf>

CORRÊA, P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **IBDF**, 1984. v. 6, 24 -25 p.

CORREIA, A. A. da S. **Maceração Enzimática da Polpa de noni (*Morinda citrifolia* L)**. 2010. 105 fl. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 4.ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1986, v.1

COSTA, A. F. Farmacognosia. 5.ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1994, v.1

DINIZ, L.R.L; VIEIRA, C.F.X; SANTOS, E.C; LIMA, G.C; ARAGÃO, K.K.V; VASCONCELOS, R.P; ARAÚJO, P.C.C; VASCONCELOS, Y.A.G; OLIVEIRA, A.C; OLIVEIRA, H.D; PORTELLA, V.G; SOUZA, A.N.C. Gastroprotective effects of the essential oil of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. on gastric ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149 , n. 3, 694-700.p, 2013.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259–279, 2002.

DUSSOSSOY, E.; BRAT, P.; BONY, E.; BOUDARD, F.; POUCHERET, P.; MERTZ, C.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 1, p.108-115, 2011.

FARIA, M.T.; COSTA, D.P.; VILELA, E.C.;RIBEIRO, D.G.; FERREIRA, H.D.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. Chemotaxonomic Markers in Essential Oils of *Hypenia*(Mart. ex Benth.) R. Harley.J. Braz.Chem. **Soc.**, Vol. 23, No. 10, 1844-1852, 2012.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: **Siqueira**, 1959, 606 p.

GARCEZ, W. S. et al. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363–393, 2013.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R.B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: BOTANICAL AND ECOLOGICAL ASPECTS. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003. MACHADO, 2009).

GUPTA, B. K.; JAIN, N. Cultivation and utilization of Genus *Cymbopogon* in Indian. *Indian Perfumer*, **New Delhi**, v. 22, n. 2, p. 55-68, 1978.

GUPTA, M. P. 270. **Plantas Medicinales Iberoamericanas**, CYTED-SECAB, Santafé de Bogotá, Colombia, 1995, pp. 413-420.

HALES, S. et al. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. **THE LANCET**, v. 360, n. 34, p. 830–834, 2002.

Harley, R. M.; Bot. J. Linn.; **Soc.** 1988, 99, 87.

Harley, R. M.; Reynolds, T. *Advances in Labiatae Science*, vol. 98. **The Royal Botanic Gardens**: Kew, UK, 1992.

HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity.

Phytotherapy Research, v. 13, n. 5, p. 380-387, 1999.

IKEDA, R.; WADA, M.; NISHIGAKI, T. NAKASHIMA, K. Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. **Food Chemistry**. v.113, p. 1169–1172, 2009.

ISSAM, A. A.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. **Phytomedicine**, v. 22, n. 2, p. 245-255, 2015.

JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. The dengue vector *Ae. aegypti* : what comes next.

Microbes and Infection, v. 12, n. 4, p. 272–279, 2010.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; HIRANO, K.; SATAKE, T.; YONEZAWA, Y.K.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 725–730, 2010.

KESHWAR, A., KESHWAR, U.; DEOGIRKAR, A., DHURDE, S. S., DEO, V. ; SHRIKHANDE, B.K.. Formulation development and evaluation of cream containing natural essential oils having mosquito repellent property. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.5, n.8, p.1586-1593, 2016.

Kew Science. 2019.**Royal Botanic Gardens**.c2019.Página inicial. Disponível em: <https://wmsp.science.kew.org/namedetail.do?name_id=101705/>. Acesso em: 20 de março de 2019.

KUSTER, V. C.; VALE, F. H. A. Leaf histochemistry analysis of four medicinal species from Cerrado. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 6, p. 673–678, 2016.

LELIS, R.T; Efeito de diferentes períodos de estresse hídrico sobre a capacidade fotossintética, o crescimento e o teor de óleo essencial em *Cymbopogon citratus*

(Poaceae).f 64 [Dissertação de Mestrado] Universidade Estadual do Norte Fluminense 59 Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Rio de Janeiro, 2014.

LIMA, J. C. da S. **Bioatividade de *Morinda citrifolia* L. (noni) na inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***. 90p. [Dissertação em Saúde Humana e Meio Ambiente]. Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2015.

LUZ, C. et al. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p. 214–215, 2008.

MA, D. L.; CHEN, M.; SU, C. X. and WEST, B. J. In Vivo Antioxidant Activity of Deacetylasperulosidic Acid in Noni. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 804-54, 2013.

MAIA, M.F.; MOORE, S.J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malaria Journal**. v.10 (supplement 1), S11, 2011.

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E (2010) Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technol** 101: 372–378.

NEVES, R.L.P.; LAMEIRA, O.A.; ASSIS, R.M.A.; PORTAL, R.K.V.P. Avaliação fenológica da espécie *Hyptis crenata* pohl ex benth. In: 18 ° Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental, 2014, Belém. Anais 2014. Belém: **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2014. 2 p.

OLIVEIRA, D.A.B. de. Uso do neem e seus componentes moleculares no controle do mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.8, n.2, Pub.2, Agosto 2015.

OLIVEIRA, M.B. **Extração, caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Citrus limon* Linneo (Limão) frente ao mosquito *Aedes Aegypti***. f 77 [Dissertação de Mestrado] Centro de Ciências Exatas e Tecnológica. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2012.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Disponível em:
<http://www.who.int/en/>. Acesso em: 6 de junho de 2019.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. May, p. 162–175, 2013.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. May, p. 162–175, 2013. GONÇALVES, 2014

PANDIYAN G. N.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, n. 15, p. 549-556, 2019.

PANDY, V.; NARASINGAM, M.; MOHAMED, Z. Antipsychotic-like activity of noni (*Morinda citrifolia* Linn.) in mice. **BMC Complement Altern Med**. v. 19, n. 12, p. 186, 2012.

PEREIRA, Á. I. S. et al. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. **Educacion Quimica**, v. 25, n. 4, p. 446–449, 2014

PORTAL DA SAÚDE. Informações técnicas da dengue. **Organização: Portal da Saúde – Ministério da Saúde**. Brasil, 2019. Disponível em:
<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/informacoes-tecnicas-dengue>> Acesso em:
17 de fevereiro de 2019.

PORTO, K. R. D. A. et al. Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 586–589, 2008.

REBELO, M.M; SILVA, J.K.R; ANDRADE, E.H.A; MAIA, J.G. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 19(1B): 230-235 p., 2009.

REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: [s.n], 1982. p. 1303-1312.

RIETRA, R. P.; HEINEN, M.; DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Effects of nutrient antagonism and synergism on yield and fertilizer use efficiency.

Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 48, n. 16, p. 1895-1920, 2017.

ROSA, P. P. Strength of the *Aedes aegypti* insecticide temephos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 14, n. 1, p. 607–610, 2016.

Rudall, P. (1979). Leaf and twig anatomy of *Eriope*, a xeromorphic genus of Labiatae. **Botanical Journal Linnaean Society** 78: 152-181.

SALEM, N.; KEFI, S.; TABBEN, O.; AYED, A.; JALLOULI, S.; FERES, N.; SGHAIER, A. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v.124, p. 115-125, 2018.

SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C. de; HENRIQUES, M. das G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.3,n.16, p.38-43, 2001.

SILVA, G.C.da. *Morinda Citrifolia* L. – **investigação científica das propriedades biológicas com base no uso popular**. 78p. [Dissertação em Ciências Farmacêuticas], Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento** 5° ed UFSC UFRGS; Florianópolis: UFSC, 833, 2001.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. 2000. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. & PETROVICK, P. R. (ed.) **Farmacognosia**. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2ª edição. 387-419.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Efficacy of Thai herbal essential oils as green repellent against mosquito vectors. **Acta Tropica**, v.142, p.127–130, 2015.

SOUZA, P. M. et al. Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, p. 1–7, 2012.

SPECIAN, V. et al. Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 16, n. 345, p. 345–351, 2014.

SPECIAN, V. et al. Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 16, n. 345, p. 345–351, 2014.

STEFANI, G. P.; PASTORINO, A.C.; CASTRO, A.P.B.M.; FOMIN, A.B.F.; JACOB, C.M.A. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**. v.27, n.1, p.81-9, 2009.

STEFFENS, A.H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. 68p.[Dissertação em Engenharia e Tecnologia de Materiais]. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SUMAN, T.Y.; RAJASREEA, S.R.R.; KANCHANAB, A.; ELIZABETH, S.B. Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.106, p.74–78, 2013.

TEIXEIRA, L. G. M., MARTINS, M. M. S., OLIVEIRA, C., MAFEZOLI, J., SILVEIRA, E. R., RAO, V. S. N. Atividade antinociceptiva dos óleos essenciais de espécies de *Psidium*. **Anais do XIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Fortaleza, p-288. 1994.

TORRES, S. M. et al. Cumulative mortality of *Ae. aegypti* larvae treated with compounds. **Revista de Saude Pública**, v. 48, n. 3, p. 445–450, 2014.

USHA, R.; SANGEETHA, S.; PALANISWAMY, M. Antimicrobial activity of a rarely known species, *Morinda citrifolia* L. **Ethnobotanical Leaflets**. v. 14; p.306-311, 2010.

White, F. (1976). The underground forests of Africa: a preliminary review. **Gardens Bidletin**, Singapore 29: 55-72.

CAPÍTULO 2.

ATIVIDADE LARVICIDA E REPELENTE DE *Hypenia irregularis* (Benth.) Harley NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti*.

RESUMO

A dengue é uma doença epidêmica emergente que dentre as transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti* é a que apresenta maior número de incidência e casos com óbito. Ao decorrer dos anos tem-se realizado estudos e projetos minuciosos para controlar e/ou amenizar o problema, porém ainda é uma situação preocupante a nível mundial. Com a grande divulgação dos efeitos benéficos de plantas medicinais, e o uso na agricultura como praguicida, estudos sobre a prospecção de plantas com atividade tóxica vem aumentando, em destaque extratos e óleos essenciais. Visto as informações, objetivou - se avaliar os efeitos do óleo essencial de *Hypenia irregularis* extraído por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger modificado frente às larvas de 3º instar e mosquitos adultos do vetor *Ae. aegypti*. Utilizou- se larvas e mosquitos da criação do Laboratório Manejo Integrado de Praga – MIP da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi - TO. A composição química do óleo foi determinada através da técnica de Cromatografia Gasosa/espectrômetro de massas (CG/MS). Os compostos majoritários foram: 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno, timol, *o*-cimeno, fenol-3-(1,1 dimetiletil)-4-metoxi e humuleno com 27,0%; 21,36%; 15,56%; 8,89% e 5,01%, respectivamente. Para todos os testes foram aplicadas concentrações que variaram de 0,007 a 0,13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para o teste larvicida foi denotado CL_{50} 0,037 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL_{95} 0,122 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para o tempo resposta necessário para atingir 95% de mortalidade (TL_{95}) foi de 27,412 minutos utilizando a concentração CL_{95} . No bioensaio de oviposição observou-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada (0,2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos, quando comparado com os testes sem tratamento. Outrossim, a ação do óleo de *H. irregularis* evidenciou melhores resultados do que o repelente comercial composto por N, N-dietil-m-toluamida (15%) em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos.

Palavras-Chaves: *Aedes aegypti*, Controle Alternativo, Dengue, Inseticida Natural.

CHAPTER 2.

LARVICIDE AND REPELLENT ACTIVITY OF *Hyphenia irregularis* (Benth.) Harley IN THE ALTERNATIVE CONTROL OF MOSQUITO *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Dengue is an emerging epidemic disease that among those transmitted by the *Aedes aegypti* mosquito is the one with the highest number of cases and cases with death. Throughout the years, studies and detailed projects have been carried out to control and / or alleviate the problem, but it is still a worrisome situation worldwide. With the wide dissemination of the beneficial effects of medicinal plants and the use in agriculture as a pesticide, studies on the prospection of plants with toxic activity have been increasing, high lighting extracts and essential oils. The objective of this study was to evaluate the effects of *Hyphenia irregularis* essential oil extracted by hydrodistillation, in a Clevenger - type device modified against 3rd instar larvae and adult mosquitoes of *Ae. aegypti*. Larvae and mosquitoes were used to create the Integrated Management Laboratory of Prague - MIP of the Federal University of Tocantins, Campus of Gurupi - TO. The chemical composition of the oil was determined using the Gas Chromatography / mass spectrometer (CG / MS) technique. The major compounds were: 2,5-dimethoxy-p-cymene, Thymol, o-cymene, Phenol-3- (1,1-dimethylethyl) -4-methoxy and Humulene with 27.0%; 21.36%; 15.56%; 8.89% and 5.01%, respectively. For all tests, concentrations ranging from 0.007 to 0.13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ were used, where for the larvicidal test LC_{50} was denoted 0.037 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ and LC_{95} was 0.122 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, for the LT_{50} response time 20.791 minutes and LT_{95} 27.412 minutes. In the oviposition bioassay it was observed that the higher the concentration of essential oil used (0.2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$), the lower the number of eggs deposited, the less eggs being deposited as compared to the untreated tests. In addition, the action of *H. irregularis* oil showed better results than N, N-diethyl-m-toluamide in 135 minutes of exposure to mosquito females.

Keywords: *Aedes aegypti*, Alternative Control, Dengue, Natural Insecticide.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença epidêmica emergente que dentre as transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, é a que apresenta maior número de incidência e casos com óbito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). O mosquito *Ae. aegypti* é o vetor central de transmissão da dengue e da febre amarela, zika vírus e chikungunya (JANSEN; BEEBE, 2010; OMS, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Grande maioria da população mundial habita em países onde a incidência de dengue é alta, sendo que a cada ano é estimado a ocorrência entre 50 e 100 milhões de infecções (OMS, 2012), em relação ao Brasil em 2016, segundo o Ministério da Saúde (2016), foram registrados 1.438.624 casos prováveis de dengue até a Semana Epidemiológica (SE) sendo estes todos os casos notificados, exceto os já descartados. Os mosquitos vetores dessa doença, o *Ae. aegypti* e o *Ae.albopictus*, são altamente adaptados às dinâmicas sociais e ao ambiente das cidades, o que faz da dengue uma enfermidade típica de áreas urbanas com características específicas. (JOHANSEN et al, 2014).

Atualmente, a forma de combate mais comum ao mosquito é o uso de inseticidas sintéticos, relacionados a compostos de organofosforados e piretróides ou até mesmo outras composições, sendo altamente tóxicos a saúde. O consumo frequente, intensivo e em doses cada vez maiores desses produtos evidenciam os principais problemas quanto ao uso de inseticidas, acarretando em populações de mosquitos resistentes a esses produtos, alterando o ciclo cronológico do ambiente e podendo atingir diretamente espécies que corroboram com o equilíbrio ambiental, trazendo efeitos adversos. (LUNA et al, 2013; OMS, 2010).

Os óleos essenciais são compostos voláteis presentes em vários órgãos de plantas. São considerados óleos devido à composição lipofílica, apesar de serem quimicamente diferentes dos óleos vegetais e gorduras. E são chamadas essenciais por estarem associados a funções de defesa e atração de polinizadores nas plantas, funções essas consideradas essenciais para a sobrevivência vegetal. Resina, folha, flor, fruto e semente são órgãos nos quais acumulam essas substâncias (SIANI et al., 2000).

As explorações de recursos naturais, na produção de inseticidas priorizam vários fatores benéficos, não só para a contenção vetorial, como também na participação biodegradável e de ser inteiramente originário de recurso renovável. Isto interpolaria a

não resistência de insetos, pois sua composição agregada a vários princípios ativos ocorre de forma prolongada. Além disso, as plantas igualmente como os insetos, são espécies que coevoluem, provocando nos mosquitos efeitos diversos como repelência, inibição de ovoposição e da alimentação, distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade (DEQUECH et al., 2009).

O *Hypenia irregularis* é uma espécie regionalmente conhecida no Jalapão como Alecrim do cerrado, pertence à família Lamiaceae, subfamília Nepetoideae, tribo Ocimeae, subtribo Hyptidinae. Hyptidinae é amplamente confinada na região centro-brasileira do Cerrado, é endêmica das savanas do centro e do norte da América do Sul. Apesar da grande diversidade de espécies que vivem nessas áreas, a composição do óleo essencial só é conhecida a partir de amostras de flores. (AGRA et al 2007; HARLEY et al, 1992).

Assim, na busca por produtos naturais renováveis e biodegradáveis no controle da transmissão da dengue que possam ser utilizados como princípio ativo em formulações inseticidas e repelentes foi testado e analisado o óleo essencial extraído das folhas de *Hypenia irregularis* frente às larvas e os mosquitos adultos de *Ae. aegypti*.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do Material Vegetal de *Hypenia irregularis* – Alecrim do cerrado

A espécie *H. irregularis*, conhecida regionalmente como Alecrim do cerrado foi coletada em Jalapão - Tocantins, (Latitude: 09° 57' 46" S e Longitude: 47° 40' 38" W) localizada na Região Norte do Brasil. Ramificações contendo folhas e flores de *H. irregularis* foram coletadas para identificação taxonômica. As coletas foram realizadas nos meses de janeiro e fevereiro de 2018.



Figura 5. *Hypenia irregularis*.
Fonte: Autor (2019).

2.2 Extração e análise do óleo essencial

A extração foi realizada por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger modificado (Figura 1), seguindo a metodologia de Guimarães et al. (2008). As folhas de *H. irregularis* foram coletadas e secas à sombra e após esse período foram cortadas em pequenos fragmentos com auxílio de tesoura. Posteriormente, em um balão de fundo redondo foi adicionado 1000 mL de água destilada e aproximadamente 300g da planta.

2.3 Criações das larvas e mosquitos (*Ae. aegypti*)

A criação de *Ae. aegypti* foi estabelecida no Laboratório de Manejo Integrado de pragas na Universidade Federal do Tocantins (Campus-Gurupi), segundo a metodologia de Aguiar et al. (2015). Os mosquitos de *Ae. aegypti* foram originalmente coletados em

Gurupi-Tocantins, Brasil (11 ° 43' 45 "latitude S, 49 ° 04' 07" de longitude oeste), aos vetores machos soluções a 10% de sacarose e as fêmeas sangue de roedores, advindo da cobaia viva Wistar (*Rattus norvegicus albinus*). De modo que, nenhum inseticida ou derivado foi utilizado para o controle dos mosquitos. As larvas se desenvolveram em recipientes de plástico (35 cm x 5 cm) onde foram alimentadas com uma dieta esterilizada (mistura 80/20 de *chow chick* / levedura). Todos os bioensaios foram realizados em foto período 12h claro/escuro a 27 ± 1 ° C, $65,0 \pm 6\%$ de UR.

2.4 Bioensaio com larvas

O teste larvicida foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Cheng et al., (2003), com algumas modificações. Foram preparadas soluções contendo água, DMSO 1,7% (Dimetil sulfóxido) e óleo essencial com o intuito de se atingir as concentrações 0,007-0,13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Em copos descartáveis com capacidade de até 100 mL foram adicionados 30 mL de água destilada e vinte e cinco larvas de *Ae. aegypti* no 3º instar, ao qual era apropriado para a pesquisa. Para maior precisão média e a diminuição de erros estatísticos, efetuou-se triplicatas de 25 insetos para cada recorrência e concentração empregada, uma vez que as análises da quantia de insetos mortos foram efetuadas 24 horas após os experimentos terem sido iniciados.

2.5 Tempo resposta

Para a realização de curvas de resposta relacionadas às concentrações foi considerada cada fase de desenvolvimento e a mortalidade dos vetores. O teste consistiu na mesma metodologia anterior, visto que, o tempo letal para 50% de mortes foi realizado advindo da CL_{50} e conseqüentemente o 95% da CL_{95} . A mortalidade foi catalogada nos primeiros testes a 15 minutos e posteriormente á 60 minutos de exposição as concentrações do óleo essencial de *H. irregularis*, sendo os resultados posteriormente descritos como TL_{50} e TL_{95} , em minutos.

2.6 Teste de atividade de repelência

A atividade repelente do óleo essencial de *H. irregularis* foi realizada segundo a metodologia descrita por Nério et al (2010) e Who (2015) com algumas modificações. Foram elaboradas para o bioensaio três caixas de acrílico (24 x 24 x 24) cm^3 , sendo utilizado um total de cento e cinquenta fêmeas de mosquitos *Ae. aegypti* com quatro a sete dias de idade. Foram preparadas também soluções com os óleos essenciais, aos

quais foram dissolvidos em etanol 99,8%, tendo-se como produto final as concentrações 0,0033 - 0,167 $\mu\text{L cm}^{-2}$. Para validação dos testes foram solicitados oito voluntários, sendo que para cada produto testado foram usadas cinquenta fêmeas por teste, em cinco repetições.

Antes de cada teste o antebraço dos voluntários, foram higienizados com etanol 70%. Após seco, foi medida uma área média de 300 cm^2 e a área restante foi recoberta por luvas de látex devido às partículas do suor conter ácido láctico, tornando aquele local um atrativo para as fêmeas. Após essas etapas, o antebraço foi inserido nas caixas de acrílico por um período de 3 minutos (Figura 2). O teste foi realizado com intervalos de 30 minutos e continuou até que fosse registrada a primeira picada ou consequentemente 135 minutos, sendo o término do tempo programado. Posteriormente foi contabilizado o número de picadas para devidos cálculos dos resultados.

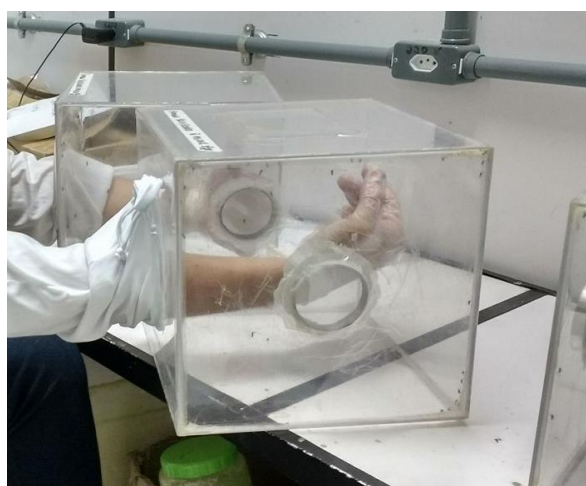


Figura 2. Início dos testes de repelência de controle positivo e negativo.
Fonte: Autor (2019)

2.7 Teste de oviposição

O efeito do óleo essencial no depósito de ovos por *Ae. aegypti* foi determinado a partir da metodologia descrita anteriormente. Vinte e cinco fêmeas alimentadas com sangue de camundongo (1-3 dias) e cinquenta machos foram inseridos contendo diferentes concentrações e incubados a 28 ± 2 ° C. As gaiolas continham em até seis repetições em copos de plástico (100 mL) com devidas concentrações (0,0833 - 0,2) em 30 mL de solução etanólica a 1,7% do óleo essencial de *H. irregularis*. O teste foi repetido quatro vezes. Os números de ovos foram contados diariamente no decorrer da adição dos copos e somados ao fim dos sete dias.

A porcentagem de viabilidade tanto para o teste ovicida quanto o de oviposição foi calculada pela seguinte fórmula: $\%V = (T-I) / T \times 100$, onde %V é a porcentagem de viabilidade do ovo, T é o número de ovos viáveis no tratamento de controle sem aplicação de óleo essencial, E é o número de ovos viáveis após o tratamento com óleo essencial.

2.8 Cromatografia Gasosa Acoplado a Espectrômetro de Massa

A composição química do óleo foi determinada no Centro Analítico do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQUSP), através da técnica de Cromatografia gasosa/espectrômetro de massas (CG/MS), sendo a análise efetuada em equipamento Shimadzu GC-2010, equipado com detector seletivo de massa modelo QP2010Plus.

Na Cromatografia gasosa (CG) os compostos foram submetidos à análise usando o instrumento Shimadzu GC-2010, equipado com coluna capilar de sílica fundida RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme); com a seguinte planificação da temperatura na coluna: 60 – 240 °C (3 °C/min); temperatura do injetor: 220 °C; gás carreador hélio; injeção com taxa de split (1:100) com volume injetado de 1 µL de uma solução 1:1000 em hexano. Para o espectrômetro de massas (MS), foram utilizadas as seguintes condições: energia de impacto de 70 eV; temperatura da fonte de íons e da interface: 200 °C.

2.9 Análises Estatísticas

O método adotado para a análise dos resultados foi à utilização de técnicas estatísticas e não paramétricas, ou seja, modelagens matemáticas em que as larvas possuíram fases exponenciais, onde dependendo da concentração, elas obtiveram a morte mais rápida, e conseqüentemente em maior número.

As curvas de concentração mortalidade foram estimadas usando o procedimento PROBIT usando o software estatístico POLO PLUS (LeOra Software Berkeley, CA, EUA). Os Gráficos de atividade residual foram plotados com a ajuda do software SIGMA PLOT 11.0 (Systat Software, Inc. San Jose, EUA). Os resultados da atividade de dispersão e repulsão da oviposição foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey realizado no software Graph Pad Prism v.5.03 (San Diego, Califórnia, EUA). Diferenças foram consideradas significantes quando $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *H. irregularis* apresentou elevada toxicidade contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti* (Tabela 1). Os testes foram realizados com concentrações que variaram de 0,007 a 0,13 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para o óleo estudado mediante aos comparativos de outros óleos estudados. Para analisar quantitativa e qualitativamente os compostos presentes do óleo em questão, foi realizada a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (Tabela 1).

O método mais utilizado para analisar quantitativa e qualitativamente os compostos presentes essenciais segundo EUROPEAN PHARMACOPEIA (2002) é a cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas, por ser mais preciso e eficiente.

Foram identificados 18 constituintes do óleo essencial de *H. irregularis*, listados conforme a ordem de eluição (Tabela 1). Os compostos majoritários foram: 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno, timol, *o*-cimeno, fenol-3-(1,1 dimetiletil)-4-metoxi e humuleno com 27,0%; 21,36%; 15,56%; 8,89% e 5,01%, respectivamente.

Loziene et al., (2003) avaliaram vinte e cinco amostras de partes aéreas de *Thymus pulegioides* L. e a composição do óleo essencial sendo os principais constituintes encontrados: timol (0,2-26%), geraniol (0-31%), carvacrol (1,5-25%), *p*-cimeno (0,1-16%), γ -terpineno (traços-21,4%), β -cariofileno (5-14%).

Silva (2006), utilizando o óleo essencial de *Lippia gracilis* revelou componentes semelhantes ao *H. irregularis* como Carvacrol 44,43%, *o*-cimeno 9,42%, 2- isopropil-5-metilanol 5,85% e Timol 3,83%. Seguindo os parâmetros de atividade larvicida, apresentou CL_{50} 98,06 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

Pereira e colaboradores (2014) testaram os óleos essenciais de espécies como *Pimenta dioica* e *Anibaduckei* contra larvas de *Ae. aegypti* e concluíram que os componentes majoritários, eugenol e linalol são capazes de proporcionar um maior efeito larvicida ao inseto. É importante observar que linalol é um dos componentes, não majoritários, do óleo essencial do *H. irregularis*, mas que pode ocasionar interações entre os outros constituintes e potencializar o efeito tóxico e larvicida.

O constituinte 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno, ou apenas *p*-cimeno, é um dos principais responsáveis pela atividade antimicrobiana já detectada em estudos com o uso de óleos essenciais testados em *S. aureus*, por exemplo. Além disso, é um dos principais

constituintes do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (falso-cardamomo) (CASTRO et al., 2016).

O óleo essencial de *Eucalyptus globulus* que contém em sua composição o constituinte o-cimeno (2,93%) já demonstrou ser eficaz contra larvas de *Haemonchus contortus*, um nematoide parasita gastrointestinal de ovinos e caprinos (MACEDO et al., 2009).

Já conforme observado por Carvalho et al. (2003), que avaliou a propriedade larvicida do óleo essencial de *L. sidoides*, foi considerado também o timol, como componente ativo tóxico principal contra as larvas de *A. aegypti*, sendo capaz de induzir 100% de mortalidade em 90 minutos, na concentração de 0,017 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Brito et al. (2015), também fez estudos avaliando essas propriedades, encontrando timol (84,95%) como constituinte majoritário do óleo essencial desta mesma espécie, seguidos pelos compostos p-cimeno (5,33%) e éter metil carvacrol (3,01%).

Segundo Silva (2012), comparando os valores dos óleos essenciais obtidos com os da literatura, no que se diz respeito aos parâmetros analisados, pode-se assim observar a presença de similaridades entre eles. As pequenas diferenças nos valores encontrados podem ser atribuídas a fatores tais como época de coleta, tempo de armazenamento, fatores genéticos, edafoclimáticos e até diferentes tipos de solo, sendo que conforme Barros *et al* (2009), as ações enzimáticas também podem ser influenciadas pelas condições climáticas, podendo acarretar alterações em determinados metabólitos secundários.

Tabela 1. Porcentagem relativa (Área %), obtida por Cromatografia a Gás acoplada a Detector de Espectrometria de Massas, dos constituintes do óleo essencial das folhas secas de *H. irregularis*.

NC	Constituintes	TR	IR	(%)
1	Diacetona álcool	2,93	2,90	4,91
2	Biciclo [3.1.0] hex-2-eno, 2-metil-5-(1-metiletil)	4,01	3,98	0,64
3	α -pineno	4,13	4,10	0,57
4	Mirceno	4,87	4,83	2,04
5	o-Cimeno	5,43	5,38	15,6
6	Linalol	6,51	6,47	1,43
7	Biciclo [3.1.0] hex-3-en-ona, 4-metil-1-(1-metiletil)	7,60	7,56	0,65
8	Terpinen-4-ol	7,78	7,75	0,98
9	Benzeno, 2-metoxi-4-metil-1-(1-metiletil)	8,44	8,40	4,20
10	Benzeno, 2-metoxi-1-metil-4-(1-metiletil)	8,58	8,53	3,32
11	Timol	9,28	9,23	7,11
12	Timol	9,41	9,33	14,3
13	Copaeno	10,6	10,5	0,48
14	2,5-dimetoxi-ρ-cimeno	10,9	10,9	27,0
15	Cariofileno	11,2	11,1	2,08
16	Biciclo [3.1.1] hept-2-eno, 2,6-dimetil-6-(4-metil)	11,3	11,2	0,49
17	Humuleno	11,7	11,6	5,01
18	Fenol, 3- (1,1-dimetiletil) -4-metoxi	11,8	11,7	8,90
19	Fenol, 3- (1,1-dimetiletil) -4-metoxi	11,9	11,7	6,70
20	1,5,5,8-tetrametil-12-oxabicida	13,5	13,5	0,41

NC = Número de compostos; TR = Tempo de retenção; IR = Índice de retenção calculado; (%) = Porcentagem de cada constituinte.

Conforme Cheng et al., (2003), propriedades de CL_{50} inferiores a $100 \mu\text{L mL}^{-1}$ baseado em sua efetividade são definidos como possíveis agentes larvicidas. Logo, tendo em vista o óleo essencial de *H. irregularis* a CL_{50} $0,037 \mu\text{L mL}^{-1}$ apresentou resultados inferiores a este valor, reforçando assim a viabilidade de seu uso mediante as larvas do mosquito *Ae. Aegypti*, especialmente levando em consideração que o óleo essencial possui baixo custo de produção, fácil aquisição, cultivo e elevado rendimento, uma vez que no processo de extração, com 300 g de folhas secas de *H. irregularis* obtém-se 1,25 mL de óleo, tendo rendimento de 0,35%.

São deferidas complicações para se realizar a análise comparativa com o óleo de *H. irregularis* devido ser uma planta recém-examinada para este fim, tornando a literatura associadas a seus estudos imprecisos, porém, mediante aos testes ressaltados foram denotados alguns estudos relacionados que também demonstraram bons resultados perante as concentrações letais.

No teste larvicida, para determinação das CL_{50} e CL_{95} do óleo essencial do *H. irregularis* (Tabela 2) foi possível verificar que as concentrações foram, respectivamente, 0,037 e 0,122 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Na literatura, Assunção (2013) calculou que a CL_{50} do óleo essencial de *Citrus sinensis* contra larvas de *Ae. aegypti* foi de 99,014 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, apesar de possuir efeito larvicida este estudo precisa de uma concentração quase 3000 vezes maior que o óleo de *H. irregularis* para alcançar o efeito da CL_{50} . Senthilkumar e Venkatesalu (2012) testaram o óleo essencial do rizoma de *A. calamus* para o efeito larvicida em larvas de *Culex quinquefasciatus* e encontraram o valor da CL_{50} de 63,43 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL_{90} no valor de 145,95 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

Nos estudos de Ríos e colaboradores (2017), foram testados onze óleos essenciais contra larvas de *Ae. aegypti* e todos eles atingiram valores de CL_{50} menores que 115 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, sendo o menor valor de CL_{50} atribuído à planta *Thymus vulgaris* com 45,73 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ de óleo e a maior CL_{50} foi atribuída à planta *Cymbopogon martinii* com 114,65 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Além disso, os principais constituintes dos óleos com maior atividade larvicida eram compostos por timol (42%) e p-cimeno (26,4%), compostos semelhantes aos encontrados no estudo aqui tratado.

De acordo com Pavela (2015), valores da CL_{50} menores que 0,05 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ são considerados eficazes no efeito larvicida. O óleo de *H. irregularis* atingiu um valor próximo a este, 0,037 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, portanto está dentro do padrão de eficácia demonstrado em estudos com mais de 122 espécies de plantas com seu óleo essencial testado como larvicida e repelente frente à diversos tipos de mosquitos.

Como Cole (2008), que testou a atividade larvicida com extratos dos frutos de *Schinus terebinthifolius* contra *Ae. aegypti*, obtendo resultados de CL_{50} de 117,34 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Em outro caso, Nunes (2017) determinou os valores de CL_{50} e CL_{95} referentes à ação do extrato de *Lippia sidoides* e *Hyptis crenata* para larvas do 3º instar de *Ae. aegypti*, tendo por resultado em *L. sidoides* de CL_{50} 123 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL_{95} 434,379 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, haja vista que para o óleo *H. crenata* os valores obtidos foram de CL_{50} 0,035 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL_{95} 0,113 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, respectivamente.

Silva et al. (2014) avaliou a espécie *Croton linearifolius* obtendo CL_{50} de 13,3 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, Costa et al. (2009) utilizando o óleo *P. marginatum* apresentou CL_{50} de 0,0083 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e por afins OLIVEIRA et al (2012), utilizando *Piper aduncum* L. ao qual o óleo foi extraído a partir de solventes orgânicos com CL_{50} de 0,29 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Assim, o óleo de *H. irregularis* se torna viável frente aos estudos já publicados, sendo uma

possibilidade econômica para formulação de repelentes e demais estratégias de controle de insetos em geral.

Tabela 2. Valores de CL₅₀ e CL₉₅ do óleo essencial de *H. irregularis* contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti*.

Óleo	Slope±SEM	CL ₅₀ (µL.mL ⁻¹)	CL ₉₅ (µL.mL ⁻¹)	χ ²	P
<i>H. irregularis</i>	2,535±0.280	0,037 (0,020-0,048)	0,122 (0,079-0,221)	8,9667	0,471

SEM: Desvio padrão; **CL_{50/95}:** Concentração Letal; **CI:** 95% Intervalo de confiança; **χ²:** valor do teste de qui-quadrado.

Para determinar os tempos letais (TL₅₀ e TL₉₅) em larvas de 3º instar de *A. aegypti* em vista do óleo essencial de *H. irregularis* foram utilizadas concentrações pré-definidas correlacionadas em 24 horas de duração de teste total. Logo, em vista dos resultados obtidos pode se inferir que à quantidade de óleo essencial relacionada com a concentração pode influenciar o resultado nas fases larval e/ou adulta ou com diferenças na desintoxicação metabólica.

Além disso, não existem estudos que demonstrem dados das características e efeitos do óleo essencial de *H. irregularis* de modo completo, o que o torna uma alternativa interessante para estudos futuros e o desenvolvimento de produtos de controle biológico de insetos vetores de doenças tropicais e até mesmo microrganismos de interesse agrícola e médico.

Ao avaliar ambos os tempos resposta do óleo de *H. irregularis* (Tabela 3), foi possível concluir que o TL₅₀ é atingido em 20,79 minutos e o TL₉₅ em 27,41 minutos. Como o valor de p (0.093) < χ^2 (0.934), há diferença significativa entre o TL₅₀ e TL₉₅. Em relação à literatura, Aguiar et al. (2015) analisou o óleo essencial de *S. guianensis*, onde o tempo resposta também foi obtido utilizando as concentrações de CL₉₅ determinadas para o terceiro estágio de *Ae. aegypti*, tendo em vista que, o tempo necessário para atingir 50% foi de 21 minutos e 95% de mortalidade (TL₉₅) 29 min. Quando comparado ao resultado de *H. irregularis* é visto resultados superiores, de modo que TL₅₀ foi 20,791 e TL₉₅ 27,412 minutos.

Tabela 3. Valores de TL₅₀ e TL₉₅ do óleo essencial de *H. irregularis* contra larvas de 3º instar do *Ae. Aegypti*.

Óleo	Slope±SEM	TL ₅₀ (min)	TL ₉₅ (min)	χ ²	P
<i>H. Irregularis</i>	0,747±0.210	20,791 (12,9-39,0)	27,412 (12,5-34,5)	0,934	0,093

SEM: Desvio padrão; TL_{50/95}: Concentração Letal; CI: 95% Intervalo de confiança; χ²: valor do teste do qui-quadrado.

Além da toxicidade em larvas, o óleo de *H. irregularis* demonstrou-se bastante promissor como repelente (Tabela 3). As concentrações utilizadas acima de 0,167 µL cm⁻²/pele foram as que apresentaram melhor tempo de proteção durante os 135 minutos em 100% (tabela 4). Além disso, a atividade repelente obtida pelas concentrações de óleo essencial foi maior que a do produto comercial geralmente vendido no Brasil como repelente de insetos (com N, N-dietil-m-toluamida [DEET] 15% em sua formulação ativa), que foi usado como um controle positivo, e teve uma máxima proteção de 69 min (Figura 3).

Mediante a literatura, Aguiar *et al* (2015), 0,045 µL / cm² (converter) obtiveram 100% de repelência para *Ae. aegypti*, respectivamente. A partir destes resultados, o óleo essencial de *H. irregularis* tem potencial para ser um excelente candidato para uma possível formulação de repelente para mosquitos.

De acordo com Pacheco (2013), o óleo de *Melaleuca alternifolia* possui potencial de repelência de até 98% em apenas 15 minutos de teste, entretanto, tal óleo necessita ser mais bem formulado para ser um candidato à repelente comercial, com eficiência na fixação dos compostos aromáticos na pele e aumento de seu desempenho e duração do efeito repelente. Em contraste, o *H. irregularis* foi capaz de demonstrar 100% de repelência nos 135 minutos testados. Ainda assim, estudos sobre a melhora de sua fixação devem ser realizados, levando-se em consideração toda a formulação necessária para manter a eficiência testada e aumentar seu tempo de ação na pele.

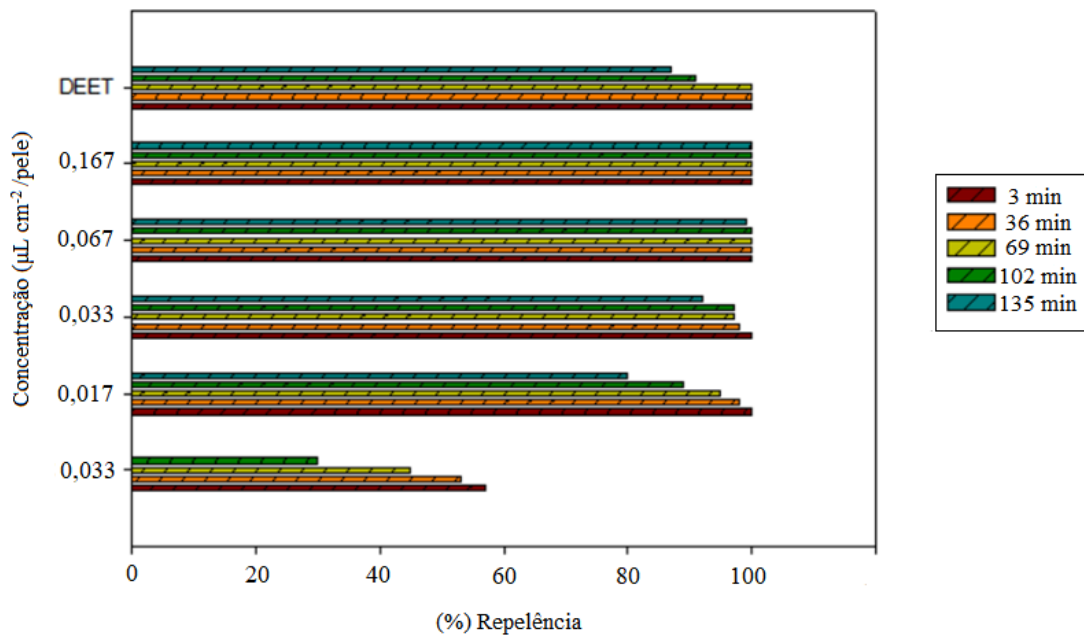


Figura 3. Atividade protetora do óleo essencial de *H. irregularis* contra mosquitos adultos de *Ae. aegypti*.

Foi denotado que o óleo essencial também pode ser dissuasivo para a oviposição. A quantidade de ovos de *A. aegypti* depositados em diferentes concentrações de óleo essencial de *H. irregularis* foi menor que a dos controles (Figura 8).

A princípio, o óleo apresentou elevada inibição do mosquito ovipositor, isso pode ser explicado devido aos seus componentes majoritários e também analisando as concentrações e as comparando com a solução controle. Em virtude que, também é perceptível que no decorrer dos dias houve a volatilização do óleo essencial, ocorrendo à variação nos valores dos testes quando comparado ao controle, porém esse fator não foi limitante, pois, mesmo assim ainda ocorreu atividade inibitória satisfatória até o quarto dia.

Consoante Silva (2012) testou a espécie *Etingera elatioros* e considerou que os constituintes majoritários do óleo essencial representaram ação retardante ao qual logo seria análogo ao óleo essencial a uma concentração de 0,05 µL.mL⁻¹ onde foi apresentada significativa atividade sendo superior a 70% dos ovos depositados nos recipientes. É importante ressaltar que, as fêmeas de *A. aegypti* não foram atraídas apenas por fontes de água limpa, indicando que o inseto apresenta certa flexibilidade na

aceitação de substratos de postura que apresentam variação em sua qualidade (Beserra et al, 2010).

De acordo com Mercês e colaboradores (2018), a toxicidade do óleo essencial de jatobá, testado em seu estudo com ácaros, é capaz de causar efeitos negativos sobre a oviposição dos insetos, diminuindo assim a sua população pelo efeito da redução da alimentação (efeito deterrente) que afeta a fecundidade das fêmeas de diversas espécies e classes de insetos.

Para Santos e colaboradores (2017), o uso do óleo essencial de *Syagrus coronata* também foi eficiente quanto ao efeito deterrente nas fêmeas grávidas de *Ae. aegypti*. Seus resultados indicaram que a atividade deterrente pode estar ligada à presença de ácidos octanoicos na composição do óleo essencial testado.

Dessa maneira, além do efeito larvicida e de repelência, o óleo de *H. irregularis* é capaz de cessar a proliferação de insetos, pela destruição de seus ovos ou impedimento de sua oviposição e oclusão, incluindo o *Ae. aegypti* em várias de suas fases de desenvolvimento, facilitando seu controle e consequentemente, o controle de doenças as quais o inseto é vetor.

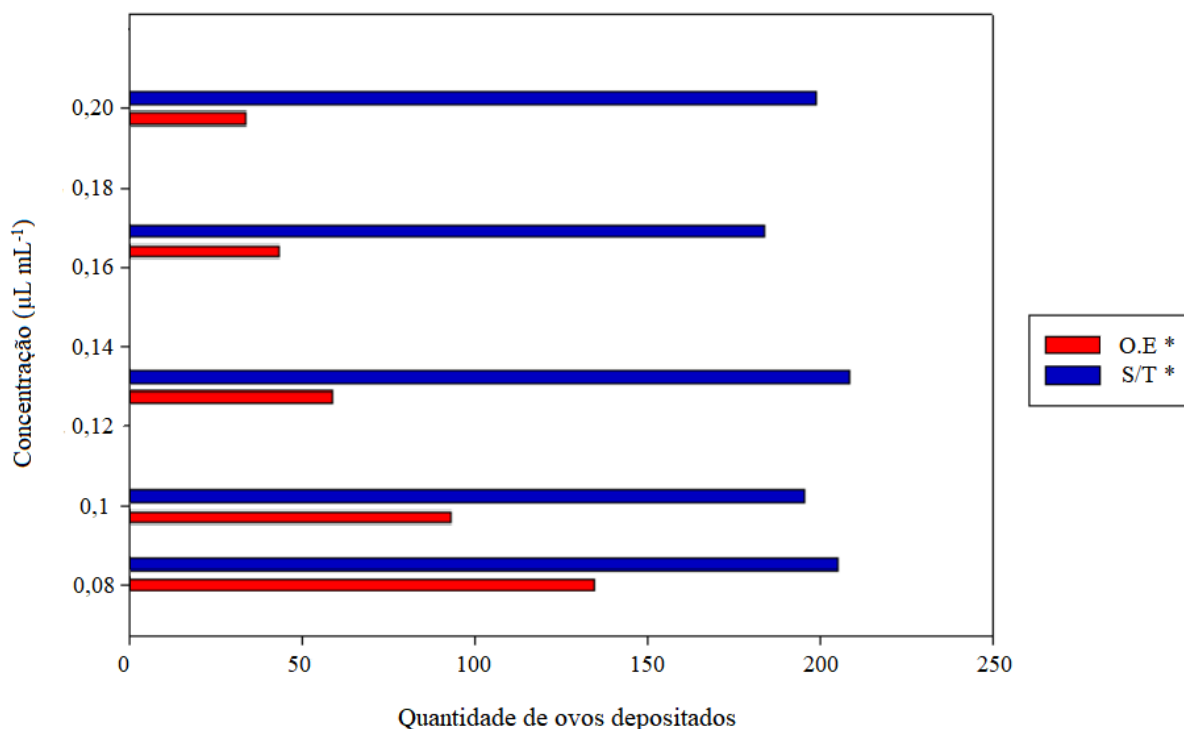


Figura 6. Média de oviposição do óleo essencial de *H. irregularis* contra larvas de 3º instar de *Ae. aegypti*.

CONCLUSÕES

O óleo essencial de *H. irregularis* demonstrou ser eficaz no efeito larvicida com CL_{50} $0,037 \mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL_{95} $0,122 \mu\text{L.mL}^{-1}$, para o tempo resposta TL_{50} 20,791 minutos e TL_{95} 27,412 minutos. No bioensaio de oviposição observou-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada ($0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$) menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos, quando comparado com os testes sem tratamento. O teste de repelência obteve 100% de aprovação na concentração $0,167 \mu\text{L cm}^{-2}$ /pele, sendo mais eficiente que o repelente comercial DEET utilizado como controle positivo em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos de *Ae. aegypti*. Logo, os resultados observados no presente trabalho, contribuem fortemente para o embasamento de possíveis novas formulações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR R.W.S., SANTOS S.F, SILVA M. F, ASCENCIO S.D., MENDONÇA M.L., VIANA K. F., DIDONET J., RIBEIRO B.M. (2015) Insecticidal and Repellent Activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLoS ONE** 10(2): e0116765.

ASSUNÇÃO, G. V. D. **Caracterização química e avaliação da atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial da espécie *Citrus sinensis* L. Osbeck (Laranja Doce)**. Dissertação. Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 97 p., 2013.

BARROS, F.M.C., ZAMBARDA, E.O., HEINZMANN, B.M., MALLMANN, C.A. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia Alba* (Mill) N. E. Brown (verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009. Cheng *et al.*, (2003),

BESERRA, E.B., FERNANDES, C.R.M., SOUSA, J.T., FREITAS, E. M., SANTOS, K.D. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. December, p. 1016–1023, 2010.

BRAGA, I.; VALLE, D. *Ae. aegypti*: Vigilância, Monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiol Serv. Saude**, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007b.

BRITO, D.I.V., MORAIS-BRAGA, M.F.B., CUNHA, F.A.B., ALBUQUERQUE, R.S., CARNEIRO, J.N.P., LIMA, M.S.F., LEITE, N.F., SOUZA, C.E.S., ANDRADE, J.C., ALENCAR, L.B.B, LAVOR, A.K.L.S., FIGUEREDO, F.G., LIMA, L.F., & COUTINHO, H.D.M.. (2015). Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida spp*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, 17(4, Suppl. 2), 836-844.

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BATIM, M. B. & RABELO, E. F. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from

Lippia sidoides Cham against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 98 (4): 569-573.

CASTRO, K. D. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; SANTOS, R. C.; PEREIRA, A. M. L.; FOGACA, F. D. S.; CALVET, R. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

COLE, E.R. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) e sua eficácia no combate ao Dengue**. Dissertação (Mestrado em química de produtos naturais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória. 82-93.p, 2008.

COSTA, J.G.M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C, SILVA.; M.R, MOTA.; M.L, SANTOS.; N.K.A, CARDOSO.; A.L.H, LEMOS.; T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 15(4): 304-309, 2005.

CHENG SS, CHANG HT, CHANG ST, CHEN WJ (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresour Technol** 89: 99–102.

DEQUECH, S. T. B, EGEWARTH R., SAUSEN, C.D., STURZA, V.S., RIBEIRO, L.P. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 551–554, 2009.

JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. The dengue vector *Ae. aegypti* : what comes next. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 4, p. 272–279, 2010.

JOHANSEN, I.C., DO CARMO, R.L., ALVES, L.C. **Desigualdade social intra urbana: implicações sobre a epidemia de dengue em Campinas, SP, em 2014**. Cad. Metrop., São Paulo, v. 18, n. 36, pp. 421-440, jul 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cm/v18n36/2236-9996-cm-18-36-0421.pdf>>. Acesso em : 17 de janeiro de 2019.

MACEDO, I. T.; BEVILAQUA, C. M.; OLIVEIRA, L. M.; CAMURÇAVASSCONSELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. D. S.; OLIVEIRA, F. R.;

CHAGAS, A. D. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009.

MERCÊS, P. F. F.; DA SILVA-BESSA, C. M. A., MALAFAIA, C. B., DE CÂMARA, C. A. G., DA SILVA, M. M. C., NAVARRO, D. M. D. A. F.; OLIVA, M. L. V. Caracterização fitoquímica e avaliação do potencial acaricida e inseticida do óleo essencial de *Hymenecourbaril* L. var. courbaril sobre o ácaro-rajado e o gorgulho do milho. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 3, n. 4, p. 417-428, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 47, n. 18, p. 1–10, 2016.

NERIO, L.S; OLIVERO-VERBEL,J.; STASHENKO, E.. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v.10, p. 372–378, 2010.

NUNES (2017). **BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS DO CERRADO NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti***. Dissertação (Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins. Gurupi ,TO, 46 -49 .p, 2017.

OLIVEIRA, M.B. **Extração, caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Citrus limon* Linneo (Limão) frente ao mosquito *Aedes Aegypti***. f 77 [Dissertação de Mestrado] Centro de Ciências Exatas e Tecnológica. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2012.

OOTANI, M. A, AGUIAR, R.W.S., RAMOS, A.C.C., BRITO, R.D., SILVA, J.B., CAJAZEIRA, J.P. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, N.2: pp. 162-175, May. 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases.**[s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/2010report/en/>. Acesso em: 12 de Junho de 2018.

PACHECO, C. D. N. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos com óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e estudo da ação repelente frente à *Aedes aegypti*.** 2013.

PAES, J. L.; FARONI, L. R. D. A.; DHINGRA, O. D.; CECON, P. R.; SILVA, T. A. Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. **CropProtection**, v. 34, p. 56-58, 2012.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial crops and products**, v. 76, p. 174-187, 2015.

PEREIRA, Á. I. S. et al. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. **Educacion Quimica**, v. 25, n. 4, p. 446-449, 2014. (CASTRO et al., 2016).

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

SANTOS, L. M.; NASCIMENTO, J. S.; SANTOS, M. A.; MARRIEL, N. B.; BEZERRA-SILVA, P. C.; ROCHA, S. K.; NAVARRO, D. M. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 100, p. 35-40, 2017.

SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Larvicidal potential of *Acorus calamus* L. essential oil against filarial vector mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 4, p. 324-326, 2012.

SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C. de; HENRIQUES, M. das G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.3,n.16, p.38-43, 2000.

SILVA, A.L.S. **Caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (GENGIBRE) frente ao mosquito *Aedes aegypti*.** 73p. [Dissertação em Química], Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

SILVA, A.L.S. **Caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (GENGIBRE) frente ao mosquito *Aedes aegypti***. 73p. [Dissertação em Química], Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

Silva, SLC, Gualberto SA, Carvalho, KS, Fries DD. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Biotemas**, 27 (2): 79-85, junho de 2014.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Adulticidal, larvicidal, pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 11, p. 967-978, 2017.

WHO (2015). Global Programme to eliminate Lymphatic filariasis: progress report on mass drug administration, 2014. **Weekly epidemiological record**. No. 38, 2015, 90, 489–504.

CAPÍTULO 3.

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE *Hypenia irregularis* (Benth) Harley UTILIZANDO PROPORÇÕES SINÉRGICAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* e *Morinda citrifolia* NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti*.

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor central de transmissão da dengue e da febre amarela, zika vírus e chikungunya. Apesar dos muitos e variados esforços em controlar a dengue, a mesma continua sendo um problema alarmante no Brasil. O método convencional e usável atualmente no mercado é o uso de inseticidas químicos, porém com o tempo foi denotado certa resistência em resposta a esses produtos, evidenciando a imposição de possibilidades de novas alternativas eficientes com propriedades inseticidas, sem agredir ao meio ambiente. Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular e devido à grande diversidade botânica disponível, as valida e as torna como possíveis substitutas aos químicos disponíveis. Alguns óleos essenciais ainda podem agir como sinergistas, podendo proporcionar redução da quantidade de óleo a ser aplicada para o controle de determinada praga, o que diminuiria os custos com o manejo e os riscos ao meio ambiente. Visto as informações, objetivou - se avaliar os efeitos do óleo essencial de *Hypenia irregularis* utilizando proporções sinérgicas com a junção dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* e *Morinda citrifolia* frente a larvas de 3º instar e mosquitos adultos do vetor *A. aegypti*. Para todos os testes foram elaboradas proporções utilizando 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ do óleo essencial como base. O sinergismo com melhor resultado em todos os bioensaios foi à proporção 1:1 utilizando *H.irregularis* x *Morinda citrifolia*. Para o teste larvicida foi denotado CL_{50} 0,032 e CL_{95} 0,118, na oviposição garantiu a diminuição da oviposição para menos de 20 ovos em comparação com o teste sem tratamento, que resultou em aproximadamente 110 ovos depositados. Outrossim, a ação do óleo de *H. irregularis* novamente apresentou melhor sinergia com *Morinda citrifolia* , evidenciando melhores resultados do que o N, N-dietil-m-toluamida em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos.

Palavras-Chaves: *Aedes aegypti*, Controle Alternativo, Inseticida Natural, Sinergismo.

CHAPTER 3.

INSECTICIDAL AND REPELLENT ACTIVITY OF *Hyponia irregularis* (Benth) Harley USING SYNERGISTIC PROPORTIONS OF ESSENTIAL OILS OF *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* and *Morinda citrifolia* IN THE ALTERNATIVE CONTROL OF MOSQUITO *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

The mosquito *Aedes aegypti* is the central vector of transmission of dengue fever and yellow fever, zika virus and chikungunya. Despite many and varied efforts to control dengue, it remains an alarming problem in Brazil. The conventional and usable method currently on the market is the use of chemical insecticides, but over time a certain resistance was denounced in response to these products, evidencing the imposition of possibilities of new efficient alternatives with insecticidal properties, without attacking the environment. Essential oils are complex mixtures of low molecular weight volatile organic compounds and because of the great botanical diversity available, they validate them and make them possible substitutes for the available chemicals. Some essential oils may still act as synergists, and may reduce the amount of oil to be applied to control a particular pest, which would reduce handling costs and the risks to the environment. The objective of this study was to evaluate the effects of *Hyponia irregularis* essential oil using synergistic proportions with the combination of the essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* and *Morinda citrifolia* against 3rd instar larvae and adult *Ae. aegypti*. For all the tests proportions were elaborated using 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ of the essential oil as base. The synergism with best result in all bioassays was 1:1 using *H. irregularis* x *Morinda citrifolia*. For the larvicidal test was denoted LC_{50} 0.032 and LC_{95} 0.118, in oviposition it guaranteed the decrease of oviposition to less than 20 eggs compared to the untreated test, which resulted in approximately 110 eggs deposited. In addition, the action of *H. irregularis* oil again showed better synergy with *Morinda citrifolia*, showing better results than N, N-diethyl-m-toluamide in 135 minutes of exposure to mosquito females.

Keywords: *Aedes aegypti*, Alternative Control, Natural Insecticide, Synergism.

1. INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença febril severa, causada pela infecção viral por transmissão do mosquito do gênero *Aedes*, geralmente na maior parte dos casos, apresenta uma evolução benigna. O mosquito é nativo do continente Africano, sendo anunciado pela primeira vez no Egito, onde se disseminou em outros países através de embarcações migracionais (BRAGA; VALLE, 2007b).

O agente etiológico está co-relacionado com um vírus RNA, sendo Arbovírus do gênero flavivírus, pertencentes à família *Flaviviridae*, onde são conhecidos quatro sorotipos: DENV 1, DENV 2, DENV 3 E DENV 4. (PORTAL DA SAÚDE, 2019). Segundo o Ministério da Saúde (2019), o mosquito adquire o vírus quando se alimenta de um hospedeiro em estado de viremia, o sangue contaminado prolifera o vírus que se encontra nas glândulas salivares do transmissor e conserva por toda a vida do mosquito. A fêmea com o vírus tem a capacidade de injetar em pessoas saudáveis através de um processo adjacente de babugem e picada através desse contato o vírus penetra nas células para replicação de genitores e conseqüentemente ocorre à disseminação pelo corpo (JANSEN; BEEBE, 2010).

A utilização de plantas com finalidades medicinais é empregada há bastante tempo na agricultura como pesticidas (ROEL et al., 2000). Os óleos essenciais além de causarem mortalidade dos insetos também podem causar alterações no seu comportamento. (ARAÚJO, 2014). Logo devido a esse grande potencial futuramente possam substituir os atuais, devido serem advindos de fontes renováveis e biodegradáveis. Mittalet et al., (2014) afirma que os óleos essenciais são fontes de compostos ativos com propriedades larvicida, antiviral, fungicida e até o uso em cosméticos.

Brandão et al., (2013), argumenta que o Brasil possui grande potencial de produção devido sua grande biodiversidade, com diversas plantas de diferentes espécies, muitas já estudadas e outras ainda nem foram exploradas. Logo, isso só favoreceria futuros experimentos em prol de recursos sustentáveis. Estes são substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas extraídas das folhas, flores, frutos, caules e raízes, com aparência oleosa à temperatura ambiente (SIMÕES & SPITZER, 2000).

Segundo Bakkali et al (2008) os efeitos dos óleos essenciais são o resultado de ações sinérgicas de todas as moléculas ou apenas dos principais constituintes que estão presentes em níveis mais elevados. Partindo desse princípio, é mais notório avaliar um

óleo por inteiro, em vez de alguns de seus componentes porque o conceito de sinergia pode ser mais significativo, afirma CAL (2006).

O sinergismo é definido como uma resposta em que a associação de substâncias, medicamentos ou moléculas resulta em maiores efeitos farmacológicos frente aos efeitos da substância, medicamento ou molécula utilizada isoladamente. No sinergismo, tais substâncias podem apresentar o mesmo mecanismo de ação, porém, atuando em diferentes vias ou receptores farmacológicos distintos (GONÇALVES, 2014).

Mas há uma carência de estudos dos efeitos da mistura entre óleos essenciais no controle dos insetos-praga. Há na literatura estudos acerca do efeito sinérgico proveniente da mistura de inseticidas, sinergistas sintéticos, óleos vegetais e até compostos de óleos essenciais (RIBEIRO et al. 2003; OBENG-OFORI & AMITEYE 2005, BECKEL et al. 2006, YUYA et al. 2009, ABBASSY et al. 2009, CORRÊA et al. 2011, ARAÚJO, 2014).

Assim, na busca por produtos naturais renováveis e biodegradáveis no controle da transmissão da dengue que possam ser utilizados como princípios ativos em formulações sinérgicas inseticidas e repelentes foram testados e analisados os óleos essenciais extraídos das folhas de *Hypenia irregularis*, *Hyptis crenata*, *Cymbopogon citratus* e os frutos maduros de *Morinda citrifolia* frente às larvas e os mosquitos adultos de *Ae. aegypti*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coletas dos Materiais Vegetais

A espécie *Hypenia irregularis* foi coletada em Jalapão - Tocantins, (Latitude: 09° 57' 46" S e Longitude: 47° 40' 38" W) localizada na Região Norte do Brasil. Ramificações contendo folhas e flores de *A. do cerrado* foram coletadas para identificação taxonômica. Já as espécies *Cymbopogon citratus*, *Hyptis crenata* e *Morinda citrifolia* foram coletadas nos arredores da Universidade Federal do Tocantins, no município de Gurupi (Latitude 11° 43' 45" Sul e Longitude: 49° 04' 07" Oeste) localizada na Região Norte do Brasil. As coletas foram realizadas nos meses de janeiro e fevereiro de 2017.

2.2 Extração e análise do óleo essencial

As folhas de *H. irregularis*, *H.crenata* e *C.citratus* foram coletadas e secas à sombra e após esse período foram cortadas em pequenos fragmentos com auxílio de tesoura, contudo, já com a espécie *M. citrifolia*, os frutos foram coletados e inseridos em um recipiente e deixados em repouso até que estivessem completamente maduros. Posteriormente, em um balão de fundo redondo foi adicionado 1000 mL de água destilada e aproximadamente 300 g de cada planta, sendo uma extração por vez. A extração foi realizada por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger modificado (Figura 9), seguindo a metodologia de Guimarães *et al.* (2008).



Figura 7. Aparelho do tipo clevenger modificado.

Fonte: <https://www.laborquimi.com.br/aparelho-clevenger>.

2.3 Criações das larvas e mosquitos (*Ae. Aegypti*).

A criação de *Ae. aegypti* foi estabelecida no laboratório de Manejo Integrado de pragas na Universidade Federal do Tocantins (Campus-Gurupi), segundo a metodologia de Aguiar *et al.* (2015). As larvas foram criadas em recipientes de plástico (35 cm x 5 cm) e foram alimentadas com uma dieta esterilizada (mistura 80/20 de *chowchick* / levedura). Os mosquitos de *A. aegypti* foram originalmente coletados em Gurupi-Tocantins, Brasil (11 ° 43' 45 "latitude S, 49 ° 04' 07" de longitude oeste), aos vetores machos soluções a 10% de sacarose e as fêmeas sangue de roedores, advindo da cobaia viva Wistar (*Rattus norvegicus albinus*). De modo que, nenhum inseticida ou derivado foi utilizado para o controle dos mosquitos. Em contra partida, antes de serem usados em bioensaios os insetos foram mantidos no laboratório por pelo menos cinco gerações (foram aprovadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, nº 010580 / 2013-1). Todos os bioensaios foram realizados em foto período 12h claro/escuro a 27 ± 1 ° C, $65,0 \pm 6\%$ de UR.

2.4 Bioensaio com larvas

Os testes foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Chenget *al.* (2003), com algumas modificações. Em copos descartáveis com capacidade de até 100 ml foram adicionados 30 mL de água destilada e vinte e cinco larvas de *Ae. aegypti* no 3º instar, ao qual era apropriado para a pesquisa, como segue na figura 8.

Foi preparada para cada proporção uma solução contendo 9900 uL de DMSO 1,7% (Dimetil sulfóxido) e 100 uL de cada óleo essencial, totalizando 10 mL de solução estoque, com o intuito de que cada concentração das proporções (Tabela 4) fosse testada entre cada uma das concentrações finais: 0,007; 0,0013; 0,020; 0,027; 0,030; 0,050; 0,067; 0,083; 0,1 e 0,13 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Para maior precisão média e a diminuição de erros estatísticos, efetuaram-se triplicatas de 25 insetos para cada recorrência e concentração empregada, uma vez que as análises da quantia de insetos mortos foram efetuadas 24 horas após os experimentos terem sido iniciados.

Tabela 4. Valores das proporções da interação sinérgica proporcionais a cada óleoessencial.

Proporções	<i>H.irregularis</i> (uL mL ⁻¹)	Óleo x, y, z(uL mL ⁻¹)
0:1	0	100
1:1	50	50
2:1	67	33
3:1	75	25
1:0	100	0
1:2	33	67
1:3	25	75

Óleo x: *Morinda citrifolia*; Óleo y: *Hyptis crenata*; Óleo z: *Cymbopogon citratus*;

2.5 Tempo resposta

Para a realização de curvas de resposta relacionadas às concentrações foi considerada cada fase de desenvolvimento e a mortalidade dos vetores. O teste consistiu na mesma metodologia anterior, outrossim, a mortalidade foi catalogada nos primeiros testes a 15 minutos e posteriormente a 60 minutos de exposição as concentrações do óleo essencial de *H. irregularis* com sinergia entre *M. citrifolia*, *H. crenata* e *C. citratus*, todas realizadas separadamente. De modo que a atividade do tempo de resposta foi descrita como TL₅₀ e TL₉₅, em horas.

2.6 Teste de atividade de repelência

O teste de repelência foi executado segundo a metodologia descrita em Nério e colaboradores (2010) e Who (2011) com algumas modificações. Foram elaboradas três caixas de acrílico (24 x 24 x 24) cm³, ao qual inicialmente foram realizados experimentos com produtos comerciais de ação repelente e utilizando o óleo de *H. irregularis*, *M.citrifolia*, *H. crenata* e *C.citratus* isolados como também seu uso em sinergia, verificando em diversas dosagens e em variados intervalos de tempo sua eficácia contra os mosquitos. Foi utilizado um total de 150 fêmeas por teste dos mosquitos *Ae. aegypti* de cinco a sete dias de idade. Cinco voluntários foram então solicitados, sendo que para cada produto testado foram usadas 50 fêmeas por teste, em cinco repetições.

O teste consistia da seguinte forma: o antebraço dos voluntários, antes de cada teste foram lavados com água e sabão e higienizados com etanol 70%. Após seco, para cada antebraço foi medido uma área média de 300 cm² e em seguida, as mãos foram cobertas com luvas a fim de que fosse evitado o pouso dos insetos, devido às partículas

do suor conter ácido lático, tornando aquele local um atrativo a alimentação das fêmeas. Foram preparadas para cada óleo essencial soluções seguidas da proporção 1:1 aos quais foram solubilizadas em etanol 99,8%, tendo-se como produto final as concentrações 0,0033; 0,017; 0,033; 0,067; 0,167; 0,333 e 0,500 $\mu\text{L cm}^{-2}$ (Tabela 5). Os testes de repelência com *Ae. aegypti* foram realizados no período diurno, devido ser o horário mais adequado aos hábitos dos insetos.

Tabela 5. Proporção do óleo essencial mediante as concentrações contra mosquitos de *Ae. aegypti*.

Proporção	Concentração ($\mu\text{L cm}^{-2}$)
	0,0033
	0,017
	0,033
1:1	0,067
	0,167
	0,333
	0,500

Para início do teste de repelência, foram adicionadas as concentrações do óleo essencial para a caixa 1, na caixa 2 o etanol (Controle negativo), e por fim, a caixa 3 utilizando concentrações advindas do repelente spray comercial *DEET* 15% (Controle positivo).

Após essas etapas, o antebraço dos voluntários foi inserido no interior das caixas de acrílico, com um número contabilizado de 50 fêmeas por caixa, por um período de 3 minutos (Figura 10). O teste foi feito com um intervalo de 30 minutos e continuou até que fosse registrada a primeira picada ou até mesmo o término do tempo que foi programado, totalizando 135 minutos. Sendo assim, posteriormente foi contabilizado o número de picadas e anotadas para devidos cálculos dos resultados.



Figura 8. Teste de repelência com as concentrações dos óleos essenciais.

2.7 Teste de oviposição

O efeito do óleo essencial no depósito de ovos por *Ae. aegypti* foi determinado a partir da metodologia descrita anteriormente. Foram produzidas cinco gaiolas entomológicas (35 cm de largura x 23 cm de profundidade x 47 cm de comprimento) para cada concentração (0,0833, 0,1, 0,13, 0,166 e $0,2\mu\text{L.mL}^{-1}$). Vinte e cinco fêmeas e cinquenta machos foram inseridas em cada gaiola e então incubadas a $28 \pm 2^\circ \text{C}$.

Foi preparada para cada óleo essencial isolado soluções contendo 9900uL de DMSO 1,7% (Dimetil sulfóxido) e 100 uL óleo essencial, totalizando 10 mL de solução estoque. Já para os testes de sinergismo, foram preparadas soluções com 9900 uL de DMSO 1,7% (Dimetil sulfóxido) e 100 uL de cada óleo essencial (segundo a proporção 1:1). Tanto os óleos isolados quanto os sinérgicos foram testados entre cada uma das concentrações finais: 0,0833, 0,1, 0,13, 0,166 e $0,2\mu\text{L.mL}^{-1}$.

Para os óleos essenciais isolados, foram inseridos em cada gaiola dois copos descartáveis com 30 mL de água destilada, o primeiro era composto pelo controle e o segundo pela concentração do óleo essencial pré-determinada. Já para os com ação sinérgica, dois copos descartáveis com 30 mL de água destilada foram inseridos, o diferencial é que o primeiro era composto pelo controle e o segundo pela proporção 1:1 referente a cada concentração. Os copos tanto dos isolados quanto dos efeitos sinérgicos foram recobertos com papel alumínio sendo que os copos com referência ao grupo controle eram compostos apenas por DMSO 1,7% (Dimetil sulfóxido).

Para manter a vida útil das fêmeas foram realizados todos os dias repastos sanguíneos advindos de roedores e aos machos soluções com 10% de sacarose. O teste foi analisado por sete dias, sendo que os números de ovos foram contabilizados diariamente no decorrer da adição dos copos e somados ao fim do período de testes.

A porcentagem de viabilidade para o teste de oviposição foi calculada pela seguinte fórmula: $\%V = (T-I) / T \times 100$, onde %V é a porcentagem de viabilidade do ovo, T é o número de ovos viáveis no tratamento de controle sem aplicação de óleo essencial, I é o número de ovos viáveis após o tratamento com óleo essencial.

2.8 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massa

A composição química do óleo foi determinada no Centro Analítico do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQUSP), através da técnica de Cromatografia gasosa/espectrômetro de massas (CG/MS), sendo a análise efetuada em equipamento Shimadzu GC-2010, equipado com detector seletivo de massa modelo QP2010Plus.

Na Cromatografia gasosa (CG) os compostos foram submetidos à análise usando o instrumento Shimadzu GC-2010, equipado com coluna capilar de sílica fundida RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme); com a seguinte planificação da temperatura na coluna: 60 – 240 °C (3 °C/min); temperatura do injetor: 220 °C; gás carreador hélio; injeção com taxa de split (1:100) com volume injetado de 1 µL de uma solução 1:1000 em hexano. Para o espectrômetro de massas (MS), foram utilizadas as seguintes condições: energia de impacto de 70 eV; temperatura da fonte de íons e da interface: 200 °C.

2.9 Análises Estatísticas

O método adotado para a análise dos resultados foi a utilização de técnicas estatísticas e não paramétricas, ou seja, modelagens matemáticas em que as larvas possuíram fases exponenciais, onde dependendo da concentração, elas obtiveram a morte mais rápida, e conseqüentemente em maior número.

As curvas de concentração mortalidade foram estimadas usando o procedimento PROBIT usando o software estatístico POLO PLUS (LeOra Software Berkeley, CA, EUA). Os Gráficos de atividade residual foram plotados com a ajuda do software SIGMA PLOT 11.0 (Systat Software, Inc. San Jose, EUA). Os resultados da atividade de despersuasão e repulsão da oviposição foram submetidos à análise de variância

(ANOVA) seguida do teste de Tukey realizado no software GraphPad Prism v.5.03 (San Diego, Calif3rnia, EUA). Diferen7as foram consideradas significantes quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 18 constituintes no sinergismo entre os óleos essenciais de *H. irregularis* x *Morinda citrifolia*, listados conforme a ordem de eluição (Tabela 6). Os compostos majoritários foram: Ácido octanóico, 2,5-dimetoxi-p-cimeno, *o*-cimeno, Diacetona álcool e Carvacrol com 23,0%; 19,5%; 10,0%; 9,45% e 8,7%, respectivamente.

A análise cromatográfica realizada nos estudos de Costa (2017), que verificou a constituição química do óleo essencial de *M. citrifolia*, isoladamente, demonstrou que o principal constituinte também foi o ácido octanóico, com 82,24% da composição total. Este constituinte foi testado em sinergismo com gelatina e resultou em efeitos fungicidas no controle de antracnose.

Já, Santos e colaboradores (2012), avaliaram a composição química do óleo essencial do Alecrim do cerrado, também isoladamente e, demonstraram que três constituintes compõem 58,44% da composição total do óleo, são eles: E-nerolidol, espatulenol e óxido de cariofileno. No presente estudo, a composição com os dois óleos demonstrou a presença somente do cariofileno em 1,21%. Nenhum estudo avaliou o sinergismo composição destes dois óleos em sinergismo.

A composição dos óleos essenciais do sinergismo entre alecrim do cerrado e *M. citrifolia* contém os compostos cariofileno e ácido octanóico quando comparado com estudos de cromatografia dos mesmos óleos, porém, separadamente. Ainda segundo Costa (2017), existe variação entre os teores de constituintes secundários nas plantas, especialmente quanto à genética, fatores ambientais e fisiologia das mesmas.

Santos (2016) testou o óleo essencial de *Syagrus coronata* (ouricuri) contra larvas e ovos de *Ae. aegypti* e realizou análise GC-MS para identificar os compostos do óleo. Como conclusão, o composto majoritário foi também o ácido octanóico (40,55%). O óleo e seus componentes em sinergia foram testados como larvicida e ovicida e, dessa maneira, apresentou efeito larvicida, porém, causa efeito deterrente em fêmeas grávidas. O efeito larvicida se deve à sinergia de todos os componentes, entretanto, o efeito deterrente na oviposição é, provavelmente, ligado aos ácidos graxos, dentre eles o ácido octanóico.

Tabela 6. Porcentagem relativa (Área %), obtida por Cromatografia à Gás acoplada a Detector de Espectrometria de Massas dos constituintes dos óleos essenciais das folhas secas de *H. irregularis* x *M. citrifolia*.

NC	Constituintes	TR	IR	(%)
1	Diacetona álcool	2,91	2,90	9,45
2	Ácido Hexanóico	4,64	4,55	2,45
3	Beta.-Mirceno	4,85	4,82	1,25
4	o-Cimeno	5,41	5,33	10,0
5	Linalol	6,50	6,46	0,80
6	Ácido Octanóico, metil éster	6,83	6,80	0,79
7	Ácido Octanóico	7,64	7,40	23,0
8	Terpinen -4-ol	7,77	7,73	0,70
9	Benzeno, 2-metoxi-4-metil-1-(1-metiletil)	8,43	8,40	2,50
10	Anisol	8,60	8,53	1,94
11	Ácido hexanóico, 4-pentenil éster	8,83	8,80	2,07
12	Timol	9,27	9,23	4,30
13	Carvacrol	9,40	9,33	8,7
14	2,5-dimetoxi-p-cimeno	10,9	10,9	19,5
15	Cariofileno	11,2	11,1	1,21
16	Isobutil3-metilbut-3-enil carbonato	11,5	11,5	3,05
17	Humuleno	11,6	11,5	3,02
18	Fenol, 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi	11,7	11,7	1,14
19	Fenol, 3-(1,1-dimethylethyl)-4-metoxi	11,8	11,8	3,94
20	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicato	13,5	13,5	0,41

NC = Número de compostos; TR =Tempo de retenção; IR = Índice de retenção calculado; (%) = Porcentagem de cada constituinte.

Foram identificados 18 constituintes no sinergismo entre os óleos essenciais de *H. irregularis* x *H. crenata*, listados conforme a ordem de eluição (Tabela 7). Os compostos majoritários foram: 2,5-dimetoxi-p-cimeno (p-cimeno), carvacrol, *o*-cimeno, Diacetona álcool e Canfora com 21,89%;15,65%; 12,43%; 9,42% e 9,21%, respectivamente.

De acordo com Castro e colaboradores (2016), o 2,5-dimetoxi-p-cimeno, também conhecido como apenas p-cimeno, age diretamente no efeito antimicrobiano quando o óleo de *Alpinia zerumbet*, composto por 32,72% de p-cimeno foi capaz de inibir o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus* causadoras de mastite bovina.

A planta *Lippia gracilis* (alecrim-da-chapada) possui em sua composição 49,36% de carvacrol (MENEZES, 2016), enquanto A sinergia entre *H. irregularis* e *Hyptis crenata*, aqui testados, possui 15,65% deste mesmo constituinte. Ainda de acordo com Menezes (2016), que testou o carvacrol contra ácaros, o constituinte foi capaz de repelir a praga em 24 h de exposição, com CL₅₀ e CL₉₀ de 6,84 µL/mL e 45,97

$\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente. Além disso, este constituinte já possui efeito tóxico comprovado para diversos organismos, especialmente por seu efeito inibitório frente a enzima AcetilCOA (acetilcolinesterase), responsável pelo sistema nervoso central de diversos insetos.

Estes constituintes, juntamente com as outras substâncias que compõem os óleos, agem através de efeito sinérgico, mesmo que estas substâncias se apresentem em menores proporções, tudo depende da potencial ação de cada uma e seu sinergismo com os demais constituintes dos óleos essenciais testados (CASTRO et al., 2016).

Tabela 7. Porcentagem relativa (Área %), obtida por Cromatografia à Gás acoplada a Detector de Espectrometria de Massas, dos constituintes do óleo essencial das folhas secas de *H. irregularis* x *H. crenata*.

NC	Constituintes	TR	IR	(%)
1	Diacetona álcool	2,93	2,90	9,42
2	Alfa Pineno	4,12	4,01	1,47
3	Beta Mirceno	4,85	4,80	1,76
4	o-Cimeno	4,85	4,80	10,0
5	Eucalipto	5,54	5,50	4,77
6	Terpineno	5,91	5,87	1,1
7	Linalol	6,5	6,47	1,12
8	Canfora	7,3	7,26	9,21
9	Terpinen-4-ol	7,78	7,78	1,65
10	Alfa Terpeneol	7,97	7,95	0,93
11	Anisol	8,43	8,40	2,9
12	Anisol	8,6	8,47	2,22
13	Carvacrol	9,27	9,23	5,27
14	Carvacrol	9,4	9,35	10,4
15	2,5-dimetoxi-p-cimeno	10,9	10,9	21,9
16	Cariofileno	11,1	11,1	2,58
17	Humuleno	11,6	11,5	3,52
18	3-tert-butil-4-hidroxianisol	11,8	11,7	1,49
19	Fenol, 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi	11,8	11,8	4,83
20	Fenol, 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi	13,2	13,1	1,05

NC = Número de compostos; TR = Tempo de retenção; IR = Índice de retenção calculado; (%) = Porcentagem de cada constituinte.

No sinergismo entre os óleos *H. irregularis* e *C.citratu*s, foram identificados 18 constituintes, listados conforme a ordem de eluição (Tabela 8). Seus compostos majoritários foram: Citral, Itral, 2,5-Dimetoxi-p-cimeno (ou, p-cimeno) e Diacetona álcool com 22,99%, 17,10%, 15,58% e 9,34%, respectivamente.

O óleo de *C.citratus* já foi estudado, isoladamente, quanto à sua composição e quanto à sua atividade antimicrobiana frente às bactérias de interesse médico, *E. coli*, *Salmonella enteritidis* e *Listeriamonocytogenes*, resultando em maiores efeitos na primeira, *E. coli*, e efeito moderado nas demais. Além disso, o óleo possui em sua composição o citral, com aproximadamente 70% do seu total, e este composto é o principal responsável por sua atividade antifúngica e antimicrobiana. O citral em uma concentração de 0,01% é capaz de inibir o crescimento de *E. coli*. Mais uma vez se constata que a modulação da ação antimicrobiana dos principais componentes em sinergismo é dependente das moléculas menores (VALERIANO et al., 2012).

De acordo com Silva e colaboradores (2010), óleos essenciais, como o óleo essencial de orégano, compostos por p-cimeno podem potencializar o efeito antimicrobiano em cepas de *Salmonella enteritidis*, importante microrganismo patogênico de interesse médico.

Tabela 8. Porcentagem relativa (Área %), obtida por Cromatografia à Gás acoplada a Detector de Espectrometria de Massas, dos constituintes do óleo essencial das folhas secas de *H. irregularis* x *C. citratus*.

NC	Constituintes	TR	IR	(%)
1	Diacetona álcool	2,92	2,88	9,34
2	Sulcatone	4,77	4,73	0,26
3	Beta Mirceno	4,85	4,80	4,11
4	o-Cimeno	5,41	5,35	7,34
5	Linalol	6,50	6,46	0,97
6	Isogeraniol	7,69	7,64	0,41
7	Terpinen-4-ol	7,77	7,74	0,44
8	Anisol	8,43	8,40	1,98
9	Itral	8,56	8,51	17,1
10	Geraniol	8,70	8,61	1,44
11	Citral	8,97	8,93	23,0
12	Carvacrol	9,27	9,23	3,48
13	Carvacrol	9,39	9,35	6,87
14	2,5-dimetoxi-p-cimeno	10,9	10,9	15,5
15	Cariofileno	11,1	11,1	0,84
16	Alfa Bergamoteno	11,2	11,2	0,30
17	Humuleno	11,6	11,5	2,13
18	3-tert-butil-4-hidroxianisol	11,7	11,7	0,91
19	Fenol, 3-(1,1-dimethylethyl)-4-methoxy	11,8	11,8	3,06
20	Fenol, 3-(1,1-dimethylethyl)-4-methoxy	13,3	13,1	0,45

NC = Número de compostos; TR =Tempo de retenção; IR = Índice de retenção calculado; (%) = Porcentagem de cada constituinte.

Tabela 9. Valores de CL50 e CL95 dos óleos essenciais analisados contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti*.

Óleo	Slope±SEM	CL₅₀ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	FI (CL ₅₀)	CL₉₅ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	FI (CL ₉₅)	χ^2	P
<i>H. irregularis</i> *	2.535±0,280	0,037	0,020-0,048	0,122	0,079-0,221	8,2038	0,64
<i>M. citrifolia</i>	2.712±0.292	0,036	0,019-0,049	0.120	0,079-0,217	9,2239	0,51
<i>H. crenata</i>	2.370±0.273	0.040	0,029-0,045	0.126	0,081-0,234	8.9681	0,67
<i>C. citratus</i>	1.927±0.257	0,051	0.048-0,079	0,137	0.113-0.301	8.272	0,28

SEM: Desviopadrão; **CL_{50/95}:** Concentração Letal; **CI:** 95% Intervalo de confiança; **χ^2 :** valor do teste do qui-quadrado.

Tabela 10. Valores de TL₅₀ e TL₉₅ dos óleos essenciais analisados contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti*.

Óleo	Slope±SEM	TL₅₀ (min)	FI (TL₅₀)	TL₉₅ (min)	FI (TL₉₅)	χ²	P
<i>H. irregularis</i> *	0,75+-0,21	20,791	12,9-39,0	27,412	12,5-34,5	0,934	0,093
<i>M.citrifolia</i>	0,78+-0,25	21,037	12,4 -38,9	28,237	14,3-39,3	1,467	0,059
<i>H. crenata</i>	0,81+-0,25	21,595	12,8 -32,9	28,983	15,8-39,2	1,208	0,201
<i>C.citratius</i>	0,739+-0,248	31,793	14,8 -27,3	40,905	27,6-52,5	1,694	0,282

SEM: Desvio padrão; **CL_{50/95}:** Concentração Letal; **CI:** 95% Intervalo de confiança; **χ²:** valor do teste do qui-quadrado.

Na avaliação do teste de sinergismo com Hi x Mc; Hi x Hc e Hi x Cc contra larvas de 3º instar de *Ae. aegypti* (Tabela 9), demonstram que a proporção de 1:0 em todos os casos, ou seja, todas as combinações dos óleos em sinergismo conferem as menores concentrações letais CL₅₀ e CL₉₅ contra as larvas de *Ae. aegypti*, o que significa que o óleo essencial de *H. irregularis* possui maior potencial de mortalidade quando utilizado isoladamente. Entretanto, na proporção de 1:0 para as combinações de Hi x Mc e Hi x Hc, as CL₅₀ e CL₉₅ não demonstram diferença significativa em relação à proporção de 0:1. Já na combinação Hi x Cc na proporção 0:1, existe diferença quando comparada à proporção 1:0, mostrando que a mistura de óleos requer maiores concentrações para obter a letalidade esperada.

Analisando as maiores CL₅₀ e CL₉₅, é possível verificar que a proporção 1:2 em todas as combinações de óleos essenciais, Hi x Mc com CL₅₀ e CL₉₅ de 0,063 e 0,147 µL/mL, respectivamente; Hi x Hc com CL₅₀ e CL₉₅ de 0,068 e 0,161 µL/mL, respectivamente e; Hi x Cc com CL₅₀ e CL₉₅ de 0,074 e 0,169 µL/mL, respectivamente. Com isso, observa-se que existe necessidade de maiores quantidades dos óleos essenciais e demonstra que quando se diminui a proporção do óleo de Alecrim do cerrado, o efeito contra as larvas de *Ae. aegypti* pode ser prejudicado, demandando maiores concentrações para garantir a letalidade e o efeito larvicida.

Nos estudos realizados por Probst (2012), onde foram testados diversos óleos essenciais (assa-peixe, alecrim, alecrim do campo, cravo da Índia, canela, camomila e pitanga) isoladamente e em combinações sinérgicas, foi possível concluir que os óleos essenciais quando testados de maneira isolada, puderam demonstrar melhor potencial antimicrobiano sobre cepas de bactérias de *Staphylococcus aureus*. Ainda de acordo com a autora, quando dois óleos são combinados, podem ocorrer interações capazes de provocar o sinergismo, mas também efeitos antagônicos ou de adição, isto vai depender da interação entre os constituintes de cada óleo combinado. O óleo mais eficiente foi o de canela, com Concentração Mínima Inibitória (CMI_{90%}) no valor de 230 µg/mL contra *S. aureus* e *E. coli* e, 830 µg/mL para *Pseudomonas aeruginosa*.

Santos (2016), testou o efeito larvicida do óleo de semente de *S. coronata* e com a CL₅₀ de 0,022 mg/mL foi capaz de matar 50% da população de *Ae. aegypti*. Enquanto Gomes e colaboradores (2016) testaram a atividade larvicida do óleo de gengibre em *Ae. aegypti* e constataram uma CL₅₀ de 76,07 µg/mL.

Tabela 11. Valores de CL₅₀ e CL₉₅ dos óleos essenciais pelo teste de Sinergismo contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti*.

Amostras	PP	Slope±SEM	CL ₅₀ (µL mL ⁻¹)	FI (CL ₅₀)	CL ₉₅ (µL mL ⁻¹)	FI (CL ₉₅)	χ ²	P
<i>Hi x Mc</i>	0:1	2,712±0,292	0,036	0,019-0,049	0,120	0,079-0,217	9,23	0,51
	1:2	2,081±0,240	0,063	0,046-0,066	0,147	0,106-0,244	8,64	0,62
	1:3	2,494±0,292	0,049	0,032-0,057	0,139	0,098-0,236	8,35	0,66
	1:1	2,460±0,277	0,032	0,015-0,041	0,118	0,077-0,215	9,00	0,55
	1:0	2,535±0,280	0,037	0,020-0,048	0,122	0,081-0,219	8,20	0,64
	2:1	2,049±0,301	0,061	0,044-0,069	0,144	0,079-0,221	8,53	0,81
	3:1	2,175±0,118	0,054	0,037-0,072	0,142	0,101-0,239	8,94	0,74
<i>Hi x Hc</i>	0:1	2,370±0,273	0,040	0,029-0,045	0,126	0,081-0,234	8,27	0,67
	1:2	2,812±0,341	0,068	0,052-0,071	0,161	0,116-0,305	8,33	0,50
	1:3	2,739±0,233	0,055	0,039-0,067	0,147	0,102-0,291	8,91	0,63
	1:1	2,630±0,180	0,037	0,021-0,052	0,124	0,079-0,268	8,22	0,59
	1:0	2,535±0,280	0,037	0,020-0,048	0,122	0,079-0,221	8,21	0,64
	2:1	2,349±0,203	0,065	0,049-0,069	0,153	0,108-0,297	8,72	0,88
	3:1	2,237±0,103	0,049	0,033-0,055	0,141	0,096-0,285	8,99	0,94

	0:1	1,927±0,257	0,051	0,045-0,079	0,143	0,113-0,301	8,272	0,28
	1:2	1,535±0,393	0,074	0,065-0,093	0,169	0,139-0,327	8,47	0,49
	1:3	1,535±0,123	0,059	0,053-0,081	0,148	0,118-0,306	8,83	0,31
<i>Hi x Cc</i>	1:1	2,005±0,280	0,049	0,039-0,067	0,139	0,109-0,297	8,30	0,44
	1:0	2,535±0,201	0,034	0,020-0,048	0,118	0,079-0,221	8,21	0,64
	2:1	2,182±0,332	0,071	0,063-0,091	0,162	0,132-0,320	9,12	0,51
	3:1	2,215±0,238	0,050	0,041-0,069	0,140	0,110-0,298	9,01	0,39

Hi: *H. irregularis*; *Mc*: *Morindacitrifolia*; *Hc*: *Hyptis crenata*; *Cc*: *Cymbopogon citratus*. **PP**: Proporções; **CL_{50/95}**; Concentração Letal;

Na avaliação quanto ao tempo letal (TL₅₀ e TL₉₅) nas proporções dos óleos combinados (Tabela 10), a que mais foi eficiente foi a de 1:1 em relação ao óleo *H.irregularis* x *Morindacitrifolia* demonstrando valores inferiores aos base, tendo como TL₅₀ 20,047 minutos e TL₉₅: 26,203 minutos. Os demais óleos foi a mais eficiente, com menores tempos letais. Para a proporção de 1:0 de todas as combinações, *Hix Mc*, *HixHc* e *HixCc*, observou-se o TL₅₀ e TL₉₅ nos valores de 20,791 minutos e 27,412 minutos, respectivamente, para todos os casos. Nas demais proporções em todos os casos foram demandados maiores tempos letais para atingir o efeito larvicida contra a população de *Ae. aegypti*. Estes resultados seguiram a lógica das CL₅₀ e CL₉₅ da tabela anterior (Tabela 11).

Nos estudos de Ootani (2010), foi demandado mais tempo para atingir a TL₅₀, variando de 12,77 a 51,94 horas utilizando o óleo de *C. nardus* contra *Sitophilus zeamais*, praga de importância econômica que atinge lavouras de milho, e na TL₉₅ a variação foi de 44,49 horas a 131,21 horas, ambas em concentrações maiores que as testadas no presente estudo, de 3 a 6 µL/mL.

Tabela 12. Valores de TL₅₀ e TL₉₅ dos óleos essenciais pelo teste de Sinergismo contra larvas de 3º instar do *Ae. aegypti*.

Amostras	PP	Slope±SEM	TL ₅₀ (min)	FI (TL ₅₀)	TL ₉₅ (min)	FI (TL ₉₅)	χ ²	P
<i>Hi x Mc</i>	0:1	0,78±0,25	21,037	12,4-38,9	28,237	14,3-39,3	1,467	0,059
	1:2	0,81±0,05	31,911	20,8-80,0	38,022	24,1-63,7	1,738	0,245
	1:3	0,86±0,03	28,128	16,4-68,2	35,230	21,9-70,3	2,003	0,223
	1:1	0,91±0,02	20,047	12,3-40,7	26,203	12,2-32,1	1,020	0,090
	1:0	0,75±0,21	20,791	12,9-39,0	27,412	12,5-34,5	0,934	0,093
	2:1	0,67±0,08	29,301	17,1-72,1	37,992	23,9-43,2	1,837	0,207
	3:1	0,69±0,11	28,408	19,2-58,4	38,416	24,7-73,8	2,218	0,273
<i>Hi x Hc</i>	0:1	0,81±0,25	21,595	12,8-32,9	28,983	15,8-39,2	1,208	0,201
	1:2	0,78±0,09	33,272	21,4-80,3	40,201	27,2-66,9	1,532	0,302
	1:3	0,81±0,07	30,112	17,8-74,9	38,423	25,0-73,5	2,013	0,209
	1:1	0,88±0,02	21,352	13,3-31,8	27,998	14,1-33,6	0,992	0,101
	1:0	0,75±0,21	20,791	12,9-39,0	27,412	12,5-34,5	0,934	0,093
	2:1	0,99±0,17	33,002	20,9-78,3	40,003	26,9-65,3	1,922	0,224
	3:1	0,96±0,19	29,926	17,8-57,2	38,414	24,7-72,8	2,015	0,294

	0:1	0,74±0,25	31,611	18,8-27,3	40,905	27,6-52,5	1,694	0,282
	1:2	1,14±0,18	37,902	24,1-83,2	46,881	33,7-72,1	1,927	0,299
	1:3	1,04±0,13	34,887	22,3-61,1	43,911	30,3-78,9	2,149	0,364
<i>Hi x Cc</i>	1:1	0,75±0,05	24,140	15,4-34,8	33,302	20,1-44,0	1,002	0,120
	1:0	0,75±0,21	20,791	12,9-39,0	27,412	12,5-34,5	0,934	0,093
	2:1	0,60±0,10	37,253	23,9-82,9	46,333	33,9-70,8	2,221	0,281
	3:1	0,62±0,07	32,010	20,2-59,5	40,230	27,4-64,6	2,541	0,313

Hi: *Hypenia irregularis*; **Mc:** *Morinda citrifolia*; **Hc:** *Hyptis crenata*; **Cc:** *Cymbopogon citratus*. **PP:** Proporções; **TL_{50/95}:** Concentração Letal;

Nas análises da atividade protetora das combinações dos óleos essenciais foi possível observar que o sinergismo entre Hi x Mc na proporção de 1:1 (Tabela 12), a concentração que garantiu atividade protetora de 100% durante 135 minutos do teste de repelência foi de 0,167 $\mu\text{L cm}^{-2}$. Esta mesma concentração foi observada no teste de atividade protetora entre os óleos Hi x Hc, porém com 102 minutos de aplicação a combinação garantiu 100% de repelência, diminuindo para 98% ao atingir 135 minutos. Já na combinação entre os óleos de Hi x Cc, a maior concentração testada, 0,167 $\mu\text{L cm}^{-2}$, só garantiu 100% de repelência por 36 minutos, diminuindo sua atividade protetora com o passar do tempo.

Nos estudos de Faustino (2018), a autora concluiu que nos testes de repelência do óleo essencial da resina de *Protiumheptaphyllum* contra *Ae. aegypti*, o mesmo perde seu efeito após 150 minutos de aplicação, sendo utilizada a concentração de 1 $\mu\text{L/mL}$, atingindo proteção de, no máximo, 90%. Além disso, a concentração foi aumentada para garantir maior efeito repelente. Entretanto, Nascimento (2014) enfatiza que o uso de concentrações superiores a 1000 ppm tornam inviável a utilização do repelente em larga escala.

Portanto, o presente estudo possui combinações de óleos com atividade protetora superior a 136 minutos de aplicação e com concentrações suficientes para produção em larga escala. Ademais, são necessários estudos para verificar o tempo máximo em que a concentração de 0,167 $\mu\text{L cm}^{-2}$ é capaz de garantir a repelência e testar outras diferentes concentrações superiores a esta, caso necessário; uma vez que o aumento da concentração pode garantir um efeito mais prolongado em relação à atividade protetora do óleo essencial.

Além disso, apenas as combinações entre Hi x Mc e Hi x Hc atingiram o máximo de atividade protetora, de 100% por mais tempo, 136 minutos. A combinação de Hi x Cc não se demonstra viável pela necessidade em aumentar a concentração de uso para garantir a repelência de 100% em 136 minutos. Desse modo, vale a pena investir em estudos futuros apenas nas combinações de Hi x Mc e Hi x Hp.

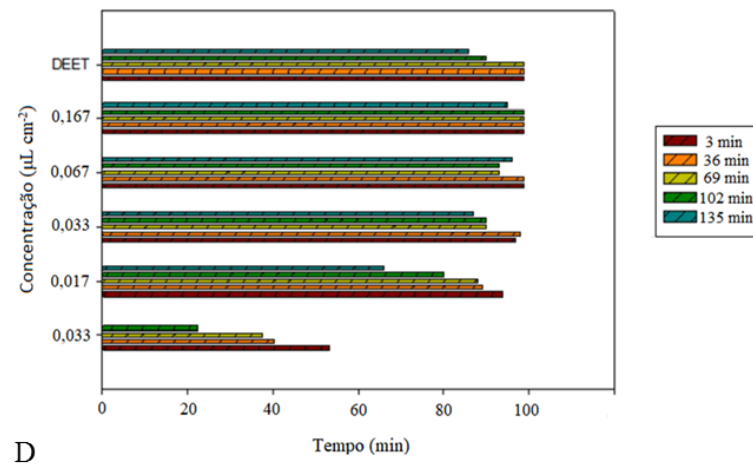
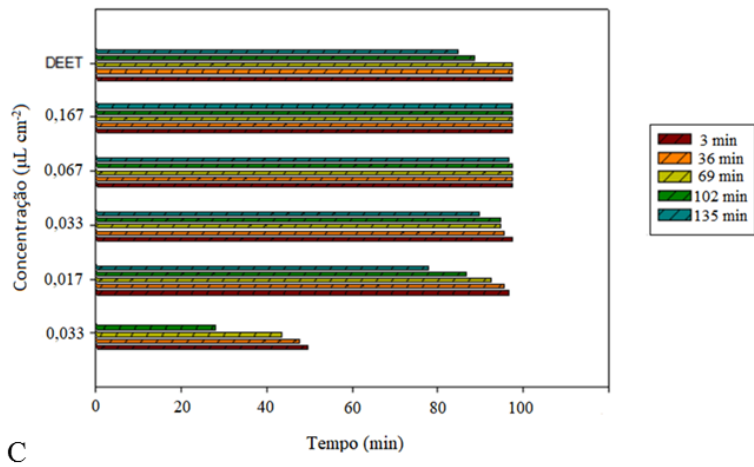
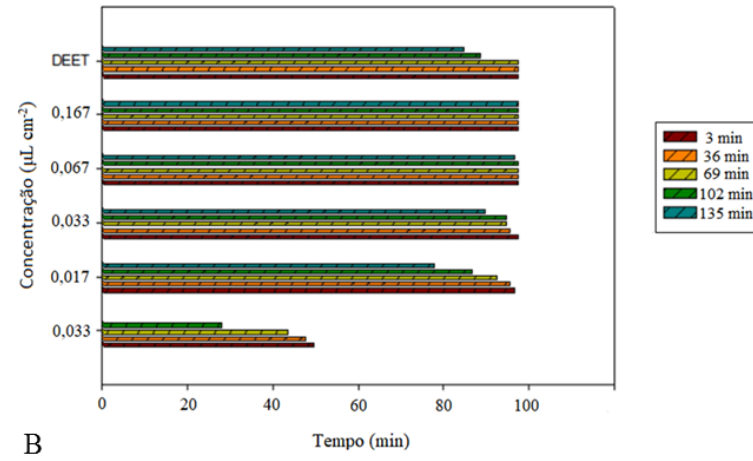
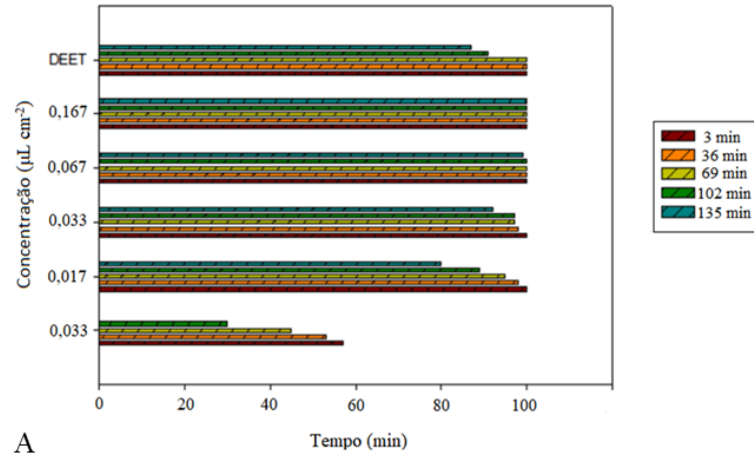


Figura 9. Atividade protetora (repelente) dos óleos essenciais: A) *H. irregularis* contra *Ae. aegypti*; B) *M. citrifolia* contra *Ae. aegypti*; C) *H. crenata* contra *Ae. aegypti* e; D) *C. citratus* contra *Ae. aegypti*.

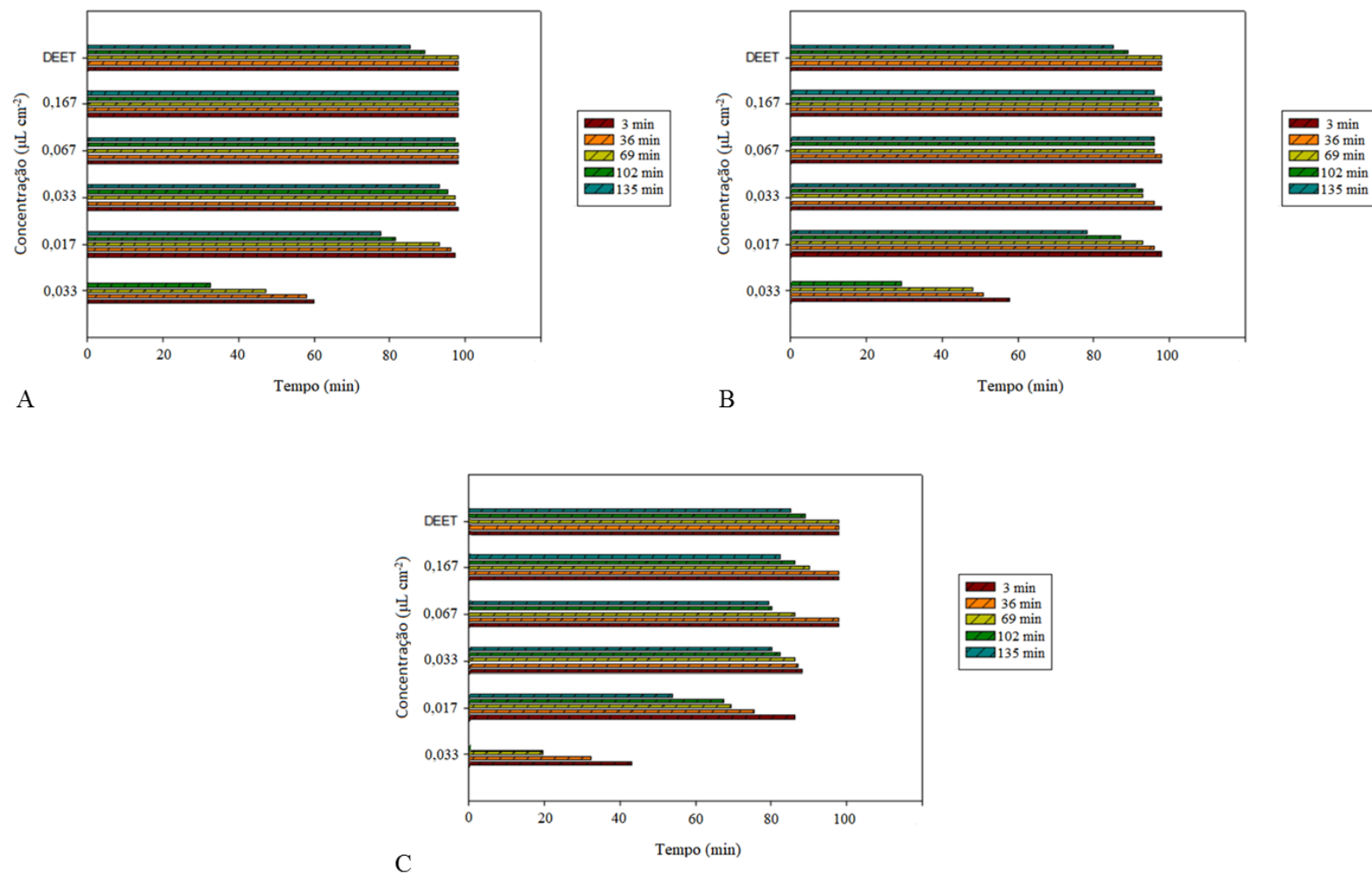


Figura 10. Atividade protetora do sinergismo 1:1 entre os óleos essenciais: A) *H. irregularis* x *Morinda citrifolia* contra *Ae. aegypti*; B) *H. irregularis* x *H. crenata* contra *Ae. aegypti* e; C) *H. irregularis* x *C. citratus* contra *Ae. aegypti*.

Quanto aos testes de oviposição, foi calculada a média de oviposição do óleo essencial de *H. irregularis* (Figura 13A), onde o eixo vertical corresponde às concentrações testadas com o óleo e o eixo vertical se refere á quantidade de ovos depositados, a barra em azul é o teste de oviposição sem tratamento e a barra vermelha, tratamento com o óleo essencial (OE).

Dessa maneira, observa-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada, $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$, menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos, quando comparado com os testes sem tratamento. Na menor concentração testada, $0,08 \mu\text{L.mL}^{-1}$, a quantidade de ovos depositados chega a quase 120 unidades.

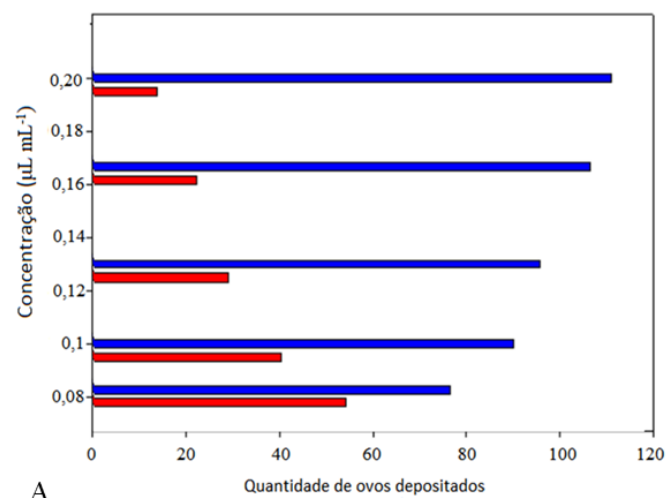
O mesmo teste foi realizado para verificar o efeito do sinergismo entre os óleos essenciais de *H. irregularis* e da *M.citrifolia* (Figura 14A), demonstrando que a maior concentração testada da combinação destes dois óleos, $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ garantiu a diminuição da oviposição para menos de 20 ovos em comparação com o teste sem tratamento, que resultou em aproximadamente 110 ovos depositados.

Para o efeito sinérgico entre os óleos de *H. irregularis* e *H.crenata* (**Figura 14B**), os resultados foram semelhantes ao sinergismo entre *H. irregularis* e *M.citrifolia*, resultando em pouco mais de 20 ovos depositados no tratamento com $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ da combinação dos óleos contra mais de 120 ovos depositados no teste sem tratamento.

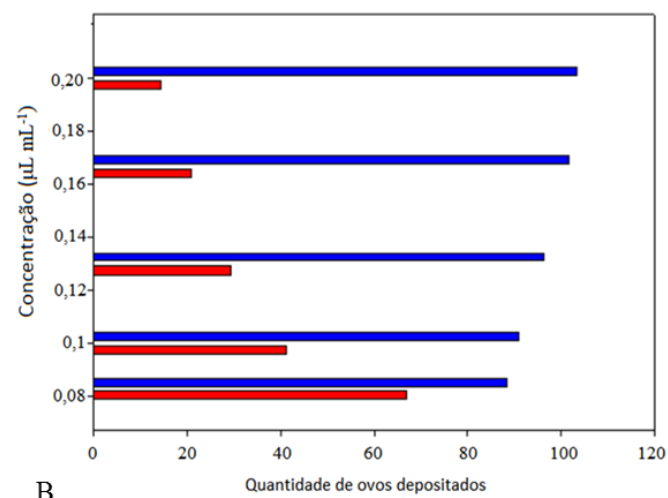
No último teste, com a combinação entre os óleos de *H. irregularis* e *C.citratrus*, a concentração de $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ resultou na oviposição de aproximadamente 35 ovos, em contrapartida, o teste sem tratamento resultou em aproximadamente 75 ovos depositados.

Dessa maneira, as combinações entre os óleos essenciais garantiram melhores resultados quando comparados com o óleo essencial de *H.irregularis* testado isoladamente. Além disso, os testes foram positivos quando comparados com o teste sem tratamento. Dentre as três combinações entre os óleos de *H. irregularis* e da *Morinda citrifolia* foram as mais eficientes na concentração de $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$.

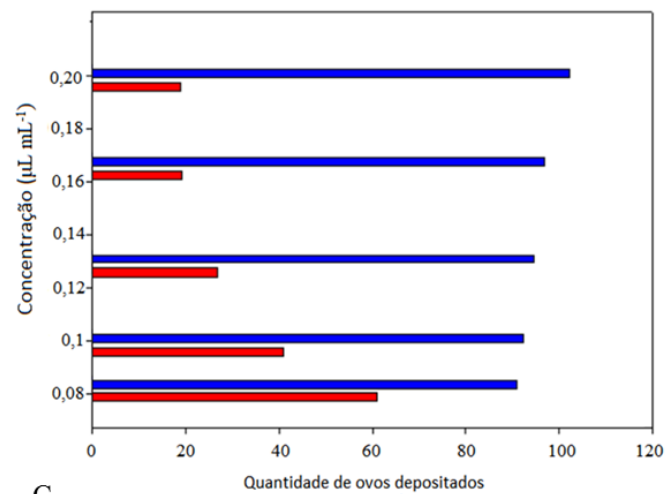
O efeito da inibição da oviposição já foi testado por outros autores que concluíram que os princípios ativos dos óleos essenciais, especialmente em sinergismo, são capazes de possuir efeito deterrente, que inibe a oviposição da fêmea da espécie *Ae. aegypti* (SILVA, 2013; ANDRÉS et al., 2017).



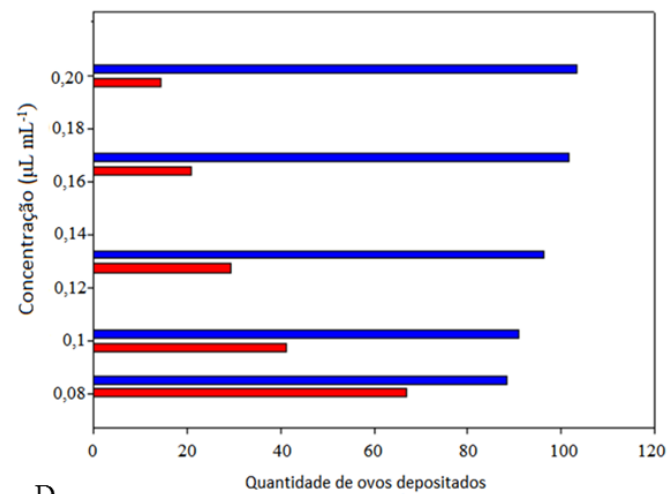
A



B



C



D

Figura 11. Média de oviposição dos óleos essenciais: A) *Hypenia irregularis* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti*; B) *Morinda citrifolia* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti*; C) *H. crenata* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti* e; D) *Cymbopogon citratus* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti*.

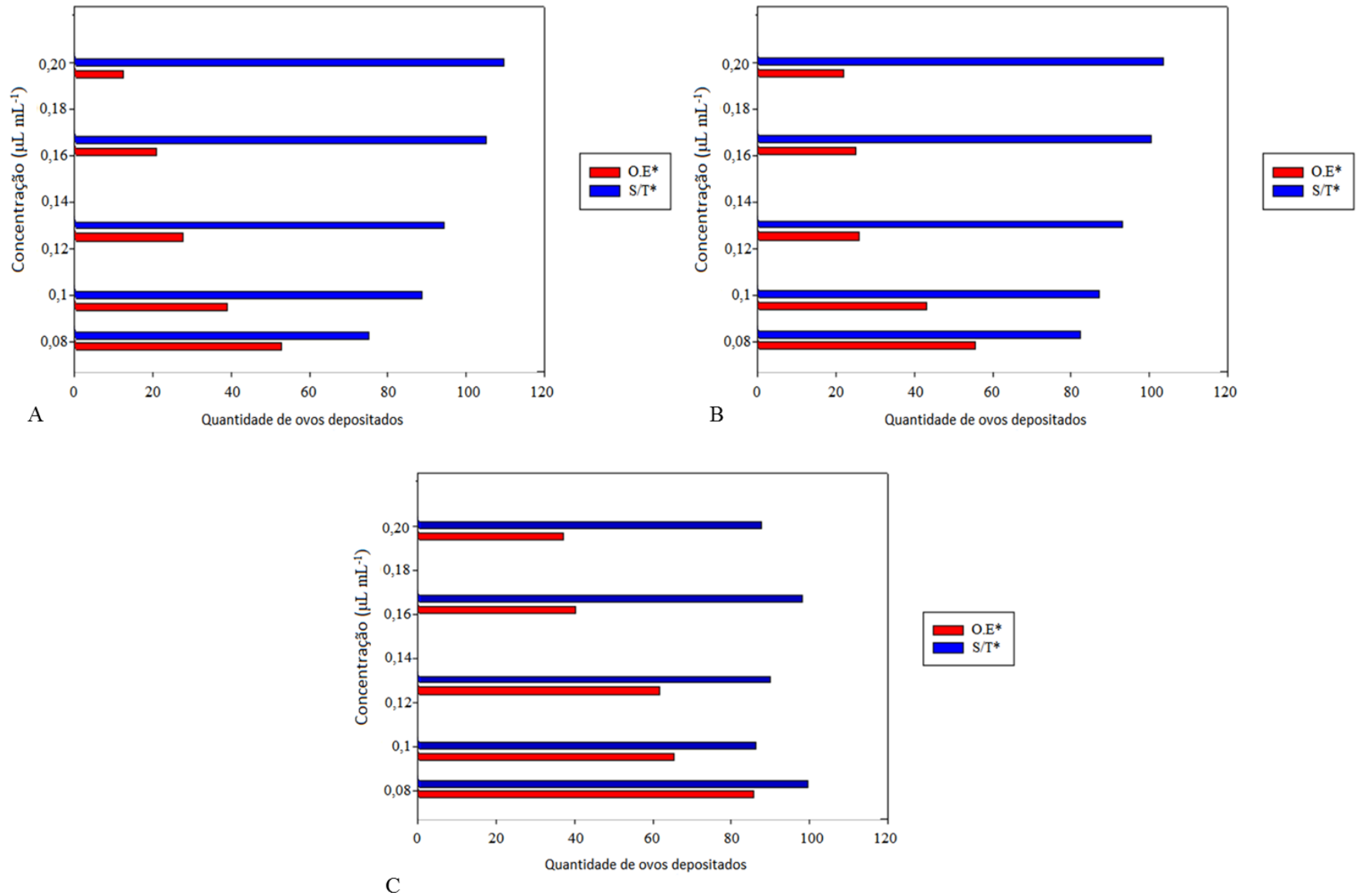


Figura 12. Média de oviposição pelo teste de sinergismo entre os óleos essenciais: A) *Hypenia irregularis* x *Morinda citrifolia* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti*; B) *Hypenia irregularis* x *Hyptis crenata* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti* e; C) *Hypenia irregularis* x *Cymbopogon citratus* contra larvas de 3º instar de *A. aegypti*.

4. CONCLUSÃO

As determinações químicas dos compostos presentes nos óleos essenciais de *H. irregularis*, *Morinda citrifolia*, *Hyptis crenata* e *C. citratus* corroboraram para o entendimento dos metabolismos produzidos capazes de oferecer atividade contra diferentes patógenos. O óleo essencial demonstrou ser eficaz na proporção 1:1 do efeito larvicida com CL_{50} 0,032 e CL_{95} 0,118. No bioensaio de oviposição observou-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada ($0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$) menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos, quando comparado com os testes sem tratamento. O teste de repelência obteve 100% de aprovação, sendo mais eficiente que o repelente comercial DEET utilizado como controle positivo em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos de *Ae. aegypti*. Logo, os resultados observados no presente trabalho, contribuem fortemente para o embasamento de possíveis novas formulações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbassy, M.A., S.A.M. Abdelgaleil & R.Y.A. Rabie. 2009. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomol. Exp. Appl.** 131: 225-232.
- ANDRÉS, M. F.; ROSSA, G. E.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; SANTANA, O.; DÍAZ, C. E.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v.109, p. 1086-1092, 2017.
- ARAÚJO, A.M.N. **Toxicidade, efeitos comportamentais e sinergismo de óleos essenciais em *Sitophilus zeamais* mots. (coleoptera: curculionidae)**. 2014. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- BAKKALI, F.; AVERBECK,S.; AVERBECK,D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.
- Beckel, H.S., I. Lorini & S.M.N. Lazzari. 2006. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Rev. Bras. Entomol.** 50: 110-114.
- BRAGA, I.; VALLE, D. *Ae. aegypti*: Vigilância, Monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiol Serv. Saude**, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007b.
- BRANDÃO MDL, COSENZA GP, PEREIRA FL, VASCONCELOS AS, FAGG CW. Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian public markets. **Environ Monit Assess.** 2013; 185(8): 7013-23.
- CASTRO, K. D. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; SANTOS, R. C.; PEREIRA, A. M. L.; FOGACA, F. D. S.; CALVET, R. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.
- Corrêa, A.S., E.J.G. Pereira, E.M.G. Cordeiro, L.S. Braga & R.N.C. Guedes. 2011. Insecticide resistance, mixture potentiation and fitness in populations of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). **Crop Prot.** 30: 1655-1666.

COSTA, P. F. **Efeito de diferentes óleos essenciais associados a biofilmes no controle da antracnose e qualidade de frutos do mamoeiro.** Dissertação. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil, 100 p., 2017.

FAUSTINO, C. G. **Estudo químico e da atividade larvicida e repelente do óleo essencial da resina de *Protiumheptaphyllum* (Aubl.) Marchand frente ao *Aedes (stegomyia) aegypti* Linneu.** Dissertação. Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP, 75 p., 2018.

GOMES, P. B.; SILVA, A. S.; PINHEIRO, H.; CARVALHO, L.; LIMA, H.; SILVA, E.; SILVA, R.; LOUZEIRO, C. H.; FILHO, V.E. M. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiberofficinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, n. 2, supl. 1, p. 597-604, 2016. Ootani (2010),

GONÇALVES, C. L. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, 92 p., 2014.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, 2008. Chenget al. (2003),

JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. The dengue vector *Ae. aegypti* : what comes next. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 4, p. 272–279, 2010. ROEL et al., 2000

MENEZES, M. S. **Caracterização química e efeito do óleo essencial de *Lippiagracilis* e seus constituintes majoritários sobre *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae).** Dissertação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 39 p., 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 37, 2016. **Organização: Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde.** v. 47, nº 34. Brasil, 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/outubro/18/2016-029-Dengue-publicacao-n-34.pdf>> Acesso em: 17 de fevereiro de 2019.

MITTAL M, GUPTA N, PARASHAR P, MEHRA V, KHATRI M. Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. **Int J Pharm Pharm Sci.** 2014; 6(8): 67-72.

NASCIMENTO, A.M. D. **Atividade repelente e larvicida de *Xylopialaevigata*, *X. frutescens* (Annonaceae) e *Lippiapedunculosa* (Verbenaceae) sobre mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera-Culicidae).** Dissertação. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 63 p., 2014.

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E (2010) Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technol** 101: 372–378.

Obeng-Ofori, D. & S. Amiteye. 2005. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos-methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. **J. Stored Prod. Res.** 41: 57-66.

PORTAL DA SAÚDE. **Informações técnicas da dengue.** Organização: Portal da Saúde – Ministério da Saúde. Brasil, 2019. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/informacoes-tecnicas-dengue>> Acesso em: 17 de fevereiro de 2019.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico.** Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 112 p., 2012.

Ribeiro, B.M., R.N.C. Guedes, E.E. Oliveira & J.P. Santos. 2003. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **J. Stored Prod. Res.** 39: 21-31.

SANTOS, L. M. M. **Avaliação do potencial de óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Martius) Beccari (Arecaceae: Arecoideae) para controle do *Aedes aegypti*.** Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil, 70 p., 2016.

SILVA, R. C. S. D. **Composição química, atividade larvicida, repelente e deterrente da oviposição de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) JB Gillet (Burseraceae).** Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 52 p., 2013.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

WHO (2011) Global Programme to eliminate Lymphatic filariasis: progress report on mass drug administration, 2010. **Weekly epidemiological record**. 86: 377–388.

Yuya, A.I., A. Tadesse, F. Azerefegne & T. Tefera. 2009. Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **J.Stored Prod. Res.** 45: 67-70.

CONSIDERAÇÕES GERAIS FINAIS

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular, são localizados nas plantas, em células diferenciadas como as células secretoras externas e internas. Alguns óleos essenciais podem agir como sinergistas, podendo proporcionar redução da quantidade de óleo a ser aplicada para o controle de determinada praga, o que diminuiria os custos com o manejo e os riscos ao meio ambiente. Foram denotados resultados promissores utilizando tanto o óleo essencial de *H. irregularis* isolado quanto seu efeito sinérgico com *Morinda citrifolia*, *Hyptis crenata* e *C. citratus*. Primeiramente o óleo essencial de *H. irregularis* isoladamente demonstrou ser eficaz no efeito larvicida com CL50 0,037 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e CL95 0,122 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e pelo sinergismo de *H. irregulares* com *Morinda citrifolia* foi eficaz na proporção 1:1 com CL50 0,032 e CL95 0,118. No bioensaio de oviposição observou-se que quanto maior a concentração de óleo essencial utilizada (0,2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) menor é a quantidade de ovos depositados, menos de 50 ovos para *H. irregularis* isolado e 20 ovos com o sinergismo, quando comparado com os testes sem tratamento. A ação do óleo de *H. irregularis* evidenciou melhores resultados tanto com o óleo essencial isolado quanto pelo efeito do sinergismo do que o N, N-dietil-m-toluamida em 135 minutos de exposição às fêmeas dos mosquitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

Abbassy, M.A., S.A.M. Abdelgaleil & R.Y.A. Rabie. 2009. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomol. Exp. Appl.** 131: 225-232.

Agra, M. F.; Baracho, G. S.; Nurit, K.; Basílio, I. J. L. D.; Coelho, V. P. M.; J. **Ethnopharmacol.** 2007, 113, 384.

AGUIAR, R. W. S. et al. Insecticidal and repellent activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, p. 1–14, 2015. COELHO; PAULA; ESPÍNDOLA, 2009;

ANDRADE, C.F.S., 2008. Repelentes de Mosquitos– Base Técnica para Avaliação. Artigos Técnicos para Avaliação. Artigos Técnicos UNICAMP, Inst. De Biologia , Dep.de Zoologia, Campinas, 2008. **Site Ecologia Aplicada**, 9pp. Disponível em: <http://www.ib.unicamp.com.br/profs/eco_aplicada/>. Acesso em: 10 de outubro de 2018.

ANDRÉS, M. F.; ROSSA, G. E.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; SANTANA, O.; DÍAZ, C. E.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v.109, p. 1086-1092, 2017.

ARAÚJO, A.M.N. **Toxicidade, efeitos comportamentais e sinergismo de óleos essenciais em *sitophilus zeamais* mots. (coleoptera: curculionidae)**. 2014. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

ARGÔLO, I. F. T. **Avaliação do sinergismo entre os componentes da pasta CTZ e o citronelol frente ao *Enterococcus faecalis***. Monografia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil, 33 p., 2014.

ASSUNÇÃO, G. V. D. **Caracterização química e avaliação da atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial da espécie *Citrus sinensis* L. Osbeck (Laranja Doce)**. Dissertação. Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 97 p., 2013.

BAJPAL, V. K.; YOON, J. I.; BHARDWAJ, M.; KANG, S. C. Anti-listerial synergism of leaf essential oil of *Metasequoia glyptostroboides* with nisin in whole, low and skim milks. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, n. 8, p. 602-608, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.

BARRETO, A. G. et al. Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 719–722, 2005.

BARROS, E. M. C. et al. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia Alba* (Mill) N. E. Brown (verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009. Cheng *et al.*, (2003),

Beckel, H.S., I. Lorini & S.M.N. Lazzari. 2006. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Rev. Bras. Entomol.** 50: 110-114.

BESERRA, E. B. et al. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. December, p. 1016–1023, 2010.

BRAGA, I.; VALLE, D. *Ae. aegypti*: Vigilância, Monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saude*, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007b.

BRANDÃO MDL, COSENZA GP, PEREIRA FL, VASCONCELOS AS, FAGG CW. Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian public markets. **Environ Monit Assess.** 2013; 185(8): 7013-23.

BRETT, J. W.; STEPHEN, K. P.; SHIXIN, D.; ALFA, K. P. Antimicrobial Activity of an Iridoid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Fruit. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 52-54, 2012. BANERJEE *et al.*, 2006;

BRITO, D.I.V., MORAIS-BRAGA, M.F.B., CUNHA, F.A.B., ALBUQUERQUE, R.S., CARNEIRO, J.N.P., LIMA, M.S.F., LEITE, N.F., SOUZA, C.E.S., ANDRADE, J.C., ALENCAR, L.B.B, LAVOR, A.K.L.S., FIGUEREDO, F.G., LIMA, L.F., & COUTINHO,

H.D.M.. (2015). Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida spp.* **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17(4, Suppl. 2), 836-844.

BUENO, C.; BEZERRA,P. **Sesau recomenda reforço nas ações de controle do *Aedes aegypti* para prevenção de doenças.** Disponível em: <<http://conexaoto.com.br/2014/09/29/>> Acesso em 10 de janeiro de 2019.

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BATIM, M. B. & RABELO, E. F. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 98 (4): 569-573. 4

CASTRO, K. D. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; SANTOS, R. C.; PEREIRA, A. M. L.; FOGACA, F. D. S.; CALVET, R. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

CLAFSHENKEL, W. P.; KING, T. L.; KOTLARCZYK, M. P.; CLINE, J. M.; FOSTER, W. G.; DAVIS, V. L.; WITT-ENDERBY, P. A. *Morinda citrifolia* (Noni) Juice Augments Mammary Gland Differentiation and Reduces Mammary Tumor Growth in Mice Expressing the Unactivated c-erbB2 Transgene. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 15p., 2012.

CONSOLI, RAGB., and OLIVEIRA, RL. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p. ISBN 85-85676-03-5. <http://books.scielo.org/id/th/pdf/consoli-9788575412909-06.pdf>

CORRÊA, A.S., E.J.G. PEREIRA, E.M.G. Cordeiro, L.S. Braga & R.N.C. Guedes. 2011. Insecticide resistance, mixture potentiation and fitness in populations of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). **Crop Prot.** 30: 1655-1666.

CORRÊA, P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **IBDF**, 1984. v. 6, 24 -25 p.

CORREIA, A. A. da S. **Maceração Enzimática da Polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.)**. 2010. 105 fl. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 4.ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1986, v.1

COSTA, A. F. Farmacognosia. 5.ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1994, v.1

COSTA, J.G.M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C, SILVA.; M.R, MOTA.; M.L, SANTOS.; N.K.A, CARDOSO.; A.L.H, LEMOS.; T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 15(4): 304-309, 2005.

COSTA, P. F. **Efeito de diferentes óleos essenciais associados a biofilmes no controle da antracnose e qualidade de frutos do mamoeiro**. Dissertação. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil, 100 p., 2017.

DEQUECH, S. T. B. et al. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 551–554, 2009.

DINIZ, L.R.L; VIEIRA, C.F.X; SANTOS, E.C; LIMA, G.C; ARAGÃO, K.K.V; VASCONCELOS, R.P; ARAÚJO, P.C.C; VASCONCELOS, Y.A.G; OLIVEIRA, A.C; OLIVEIRA, H.D; PORTELLA, V.G; SOUZA, A.N.C. Gastroprotective effects of the essential oil of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. on gastric ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**., v. 149 , n. 3, 694-700.p, 2013.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259–279, 2002.

DUSSOSSOY, E.; BRAT, P.; BONY, E.; BOUDARD, F.; POUCHERET, P.; MERTZ, C.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 1, p.108-15, 2011.

FARIA, M.T.; COSTA, D.P.; VILELA, E.C.;RIBEIRO, D.G.; FERREIRA, H.D.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. Chemotaxonomic Markers in Essential Oils of *Hypenia*(Mart. ex Benth.) R. Harley.J. Braz.Chem. **Soc.**, Vol. 23, No. 10, 1844-1852, 2012.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: **Siqueira**, 1959, 606 p.

FAUSTINO, C. G. **Estudo químico e da atividade larvicida e repelente do óleo essencial da resina de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand frente ao *Aedes (stegomyia) aegypti* Linneu.** Dissertação. Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP, 75 p., 2018.

GARCEZ, W. S. et al. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363–393, 2013.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R.B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: BOTANICAL AND ECOLOGICAL ASPECTS. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003. (MACHADO, 2009).

GOMES, P. B.; SILVA, A. S.; PINHEIRO, H.; CARVALHO, L.; LIMA, H.; SILVA, E.; SILVA, R.; LOUZEIRO, C. H.; FILHO, V.E. M. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, n. 2, supl. 1, p. 597-604, 2016.

GONÇALVES, C. L. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, 92 p., 2014.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, 2008.

GUPTA, B. K.; JAIN, N. Cultivation and utilization of Genus *Cymbopogon* in Indian. **Indian Perfumer, New Delhi**, v. 22, n. 2, p. 55-68, 1978.

GUPTA, M. P. 270. **Plantas Medicinales Iberoamericanas**, CYTED-SECAB, Santafé de Bogotá, Colombia, 1995, pp. 413-420.

HALES, S. et al. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. **THE LANCET**, v. 360, n. 34, p. 830–834, 2002.

Harley, R. M.; Bot. J. Linn.; **Soc.** 1988, 99, 87.

Harley, R. M.; Reynolds, T. *Advances in Labiatae Science*, vol. 98. **The Royal Botanic Gardens**: Kew, UK, 1992.

HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 5, p. 380-387, 1999.

IKEDA, R.; WADA, M.; NISHIGAKI, T. NAKASHIMA, K. Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. **Food Chemistry**. v.113, p. 1169–1172, 2009.

ISSAM, A. A.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. **Phytomedicine**, v. 22, n. 2, p. 245-255, 2015.

JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. The dengue vector *Ae. aegypti* : what comes next. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 4, p. 272–279, 2010.

JOHANSEN, I.C., DO CARMO, R.L., ALVES, L.C. **Desigualdade social intraurbana: implicações sobre a epidemia de dengue em Campinas, SP, em 2014**. Cad. Metrop., São Paulo, v. 18, n. 36, pp. 421-440, jul 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cm/v18n36/2236-9996-cm-18-36-0421.pdf>>. Acesso em : 17 de janeiro de 2019.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; HIRANO, K.; SATAKE, T.; YONEZAWA, Y.K.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 725–730, 2010.

KESHWAR, A., KESHWAR, U.; DEOGIRKAR, A., DHURDE, S. S., DEO, V. ; SHRIKHANDE, B.K.. Formulation development and evaluation of cream containing natural essential oils having mosquito repellent property. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.5, n.8, p.1586-1593, 2016.

Kew Science. 2019.**Royal Botanic Gardens**.c2019.Página inicial. Disponível em: <https://wmsp.science.kew.org/namedetail.do?name_id=101705/>. Acesso em: 20 de março de 2019.

KUSTER, V. C.; VALE, F. H. A. Leaf histochemistry analysis of four medicinal species from Cerrado. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 6, p. 673–678, 2016.

LELIS, R.T; Efeito de diferentes períodos de estresse hídrico sobre a capacidade fotossintética, o crescimento e o teor de óleo essencial em *Cymbopogon citratus* (Poaceae).f 64 [Dissertação de Mestrado] Universidade Estadual do Norte Fluminense 59 Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Rio de Janeiro, 2014.

LIMA, J. C. da S. **Bioatividade de *Morinda citrifolia* L. (noni) na inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***. 90p. [Dissertação em Saúde Humana e Meio Ambiente]. Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2015.

LUZ, C. et al. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p. 214–215, 2008.

MA, D. L.; CHEN, M.; SU, C. X. and WEST, B. J. In Vivo Antioxidant Activity of Deacetylasperulosidic Acid in Noni. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 804-54, 2013.

MACEDO, I. T.; BEVILAQUA, C. M.; OLIVEIRA, L. M.; CAMURÇAVASSCONSELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. D. S.; OLIVEIRA, F. R.; CHAGAS, A. D. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009.

MAIA, M.F.; MOORE, S.J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malaria Journal**. v.10 (supplement 1), S11, 2011.

MENEZES, M. S. **Caracterização química e efeito do óleo essencial de *Lippia gracilis* e seus constituintes majoritários sobre *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae)**. Dissertação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 39 p., 2016.

MERCÊS, P. F. F.; DA SILVA-BESSA, C. M. A., MALAFAIA, C. B., DE CÂMARA, C. A. G., DA SILVA, M. M. C., NAVARRO, D. M. D. A. F.; OLIVA, M. L. V. Caracterização fitoquímica e avaliação do potencial acaricida e inseticida do óleo essencial de

Hymeneacourbaril L. var. *courbaril* sobre o ácaro-rajado e o gorgulho do milho. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, v. 3, n. 4, p. 417-428, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 47, n. 18, p. 1–10, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 37, 2016. **Organização: Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde**. v. 47, nº 34. Brasil, 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/outubro/18/2016-029-Dengue-publicacao-n-34.pdf>> Acesso em: 17 de fevereiro de 2019.

MITTAL M, GUPTA N, PARASHAR P, MEHRA V, KHATRI M. Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. **Int J Pharm Pharm Sci**. 2014; 6(8): 67-72.

NASCIMENTO, A.M. D. **Atividade repelente e larvicida de *Xylopia laevigata*, *X. frutescens* (Annonaceae) e *Lippia pedunculosa* (Verbenaceae) sobre mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera-Culicidae)**. Dissertação. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 63 p., 2014.

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E (2010) Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technol** 101: 372–378.

NERIO, L.S; OLIVERO-VERBEL,J.; STASHENKO, E.. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v.10, p. 372–378, 2016.

NEVES, R.L.P.; LAMEIRA, O.A.; ASSIS, R.M.A.; PORTAL, R.K.V.P. Avaliação fenológica da espécie *Hyptis crenata* pohl ex benth. In: 18 ° Seminário de Iniciação Científica e 2° Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental, 2014, Belém. Anais 2014. Belém: **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2014. 2 p.

NUNES (2017). **BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS DO CERRADO NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MOSQUITO *Aedes aegypti***. Dissertação (Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins. Gurupi ,TO, 46 - 49.p, 2017.

Obeng-Ofori, D. & S. Amiteye. 2005. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos-methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. **J. Stored Prod. Res.** 41: 57-66.

OLIVEIRA, D.A.B. de. Uso do neem e seus componentes moleculares no controle do mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.8, n.2, Pub.2, Agosto 2015. SIANI et al., 2000.

OLIVEIRA, M.B. **Extração, caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Citrus limon* Linneo (Limão) frente ao mosquito *Aedes Aegypti***. f 77 [Dissertação de Mestrado] Centro de Ciências Exatas e Tecnológica. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2012.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Disponível em: <http://www.who.int/en/>. Acesso dia 6 de junho de 2017.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. May, p. 162–175, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases.**[s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/2010report/en/>. Acesso em: 12 de Junho de 2018.

PACHECO, C. D. N. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos com óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e estudo da ação repelente frente à *Aedes aegypti***. 2013.

PAES, J. L.; FARONI, L. R. D. A.; DHINGRA, O. D.; CECON, P. R.; SILVA, T. A. Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. **Crop Protection**, v. 34, p. 56-58, 2012.

PANDIYAN G. N.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, n. 15, p. 549-556, 2019.

PANDY, V.; NARASINGAM, M.; MOHAMED, Z. Antipsychotic-like activity of noni (*Morinda citrifolia* Linn.) in mice. **BMC Complement Altern Med.** v. 19, n. 12, p. 186, 2012.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial crops and products**, v. 76, p. 174-187, 2015. Cole (2008),

PEREIRA, Á. I. S. et al. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. **Educacion Quimica**, v. 25, n. 4, p. 446–449, 2014

PORTAL DA SAÚDE. **Informações técnicas da dengue**. Organização: Portal da Saúde – Ministério da Saúde. Brasil, 2019. Disponível em:
<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/informacoes-tecnicas-dengue>> Acesso em: 17 de fevereiro de 2019.

PORTO, K. R. D. A. et al. Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 586–589, 2008.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 112 p., 2012.

REBELO, M.M; SILVA, J.K.R; ANDRADE, E.H.A; MAIA, J.G. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 19(1B): 230-235 p., 2009.

REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: [s.n], 1982. p. 1303-1312.

RIBEIRO, B.M., R.N.C. GUEDES, E.E. OLIVEIRA & J.P. SANTOS. 2003. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **J. Stored Prod. Res.** 39: 21-31.

RIETRA, R. P.; HEINEN, M.; DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Effects of nutrient antagonism and synergism on yield and fertilizer use efficiency. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 48, n. 16, p. 1895-1920, 2017.

- RÍOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, n. 4, p. 307-311, 2017.
- ROSA, P. P. Strength of the *Aedes aegypti* insecticide temephos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 14, n. 1, p. 607–610, 2016.
- Rudall, P. (1979). Leaf and twig anatomy of *Eriope*, a xeromorphic genus of Labiatae. **Botanical Journal Linnaean Society** 78: 152-181.
- SALEM, N.; KEFI, S.; TABBEN, O.; AYED, A.; JALLOULI, S.; FERES, N.; SGHAIER, A. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v.124, p. 115-125, 2018.
- SANTOS, L. M. M. **Avaliação do potencial de óleo essencial de sementes de Syagrus coronata (Martius) Beccari (Arecaceae: Arecoideae) para controle do Aedes aegypti**. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil, 70 p., 2016.
- SANTOS, L. M.; NASCIMENTO, J. S.; SANTOS, M. A.; MARRIEL, N. B.; BEZERRA-SILVA, P. C.; ROCHA, S. K.; NAVARRO, D. M. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 100, p. 35-40, 2017.
- SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Larvicidal potential of *Acorus calamus* L. essential oil against filarial vector mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 4, p. 324-326, 2012.
- SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C. de; HENRIQUES, M. das G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.3,n.16, p.38-43, 2000 1.
- SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C. de; HENRIQUES, M. das G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.3,n.16, p.38-43, 2000.

SILVA, A.L.S. **Caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (GENGIBRE) frente ao mosquito *Aedes aegypti***. 73p.

[Dissertação em Química], Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

SILVA, G.C.da. ***Morinda Citrifolia* L. – investigação científica das propriedades biológicas com base no uso popular**. 78p. [Dissertação em Ciências Farmacêuticas], Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SILVA, R. C. S. D. **Composição química, atividade larvicida, repelente e deterrente da oviposição de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) JB Gillet (Burseraceae)**. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 52 p., 2013.

SILVA, SLC, GUALBERTO SA, CARVALHO, KS, FRIES DD. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Biotemas**, 27 (2): 79-85, junho de 2014.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento** 5° ed UFSC UFRGS; Florianópolis: UFSC, 833, 2001.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. 2000. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. & PETROVICK, P. R. (ed.) **Farmacognosia**. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2ª edição. 387-419.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Adulticidal, larvicidal, pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 11, p. 967-978, 2017.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Efficacy of Thai herbal essential oils as green repellent against mosquito vectors. **Acta Tropica**, v.142, p.127–130, 2015.

PAUMGARTTEN e DELGADO, 2016).

SOUZA, P. M. et al. Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, p. 1–7, 2012.

SPECIAN, V. et al. Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 16, n. 345, p. 345–351, 2014.

STEFANI, G. P.; PASTORINO, A.C.; CASTRO, A.P.B.M.; FOMIN, A.B.F.; JACOB, C.M.A. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**. v.27, n.1, p.81-9, 2009.

STEFFENS, A.H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. 68p.[Dissertação em Engenharia e Tecnologia de Materiais]. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SUMAN, T.Y.; RAJASREEA, S.R.R.; KANCHANAB, A.; ELIZABETH, S.B. Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.106 , p.74– 78, 2013.

TEIXEIRA, L. G. M., MARTINS, M. M. S., OLIVEIRA, C., MAFEZOLI, J., SILVEIRA, E. R., RAO, V. S. N. Atividade antinociceptiva dos óleos essenciais de espécies de *Psidium*. **Anais do XIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Fortaleza, p-288. 1994.

TORRES, S. M. et al. Cumulative mortality of *Ae. aegypti* larvae treated with compounds. **Revista de Saude Pública**, v. 48, n. 3, p. 445–450, 2014.

USHA, R.; SANGEETHA, S.; PALANISWAMY, M. Antimicrobial activity of a rarely known species, *Morinda citrifolia* L. **Ethnobotanical Leaflets**. v. 14; p.306-311, 2010.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

White, F. (1976). The underground forests of Africa: a preliminary review. **Gardens Bidletin**, Singapore 29: 55-72.

WHO (2011) Global Programme to eliminate Lymphatic filariasis: progress report on mass drug administration, 2010. **Weekly epidemiological record**. 86: 377–388.

YUYA, A.I., A. TADESSE, F. AZEREFEGNE & T. TEFERA. 2009. Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **J.Stored Prod. Res.** 45: 67-70.