



EFEITO SUBLETAL DO ÓLEO DE *COPAIFERA* SP. (LINNAEUS) (LEGUMINOSAE) SOBRE IMATUROS DE *AEDES AEGYPTI* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)

L.C.B.P. da Rocha¹

F.V. Fonseca¹; B.M. Silva¹; J.S. Prophiro¹.

1 - Universidade do Sul de Santa Catarina, Laboratório de Imunoparasitologia, Departamento de Ciências Biológicas, Avenida José Acácio Moreira, nº 787, Bairro Dehon, 88704 - 900, Tubarão Santa Catarina, Brasil. Telefone: (48) 3621 - 3294 / (48) 3621 - 3467 - carolyneprocha@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A dengue é considerada uma das mais importantes arboviroses que afetam o homem, em termos de morbidade e mortalidade. Estima-se que entre 50 a 100 milhões de pessoas se infectem anualmente em mais de 100 países de todos os continentes, exceto a Europa. Cerca de 550 mil doentes necessitam de hospitalização e 20 mil morrem em consequência da dengue (SVS 2005).

Na região das Américas, o Brasil tem sido responsável por 70% dos casos relatados com significativo aumento das formas graves da doença a partir de 2002 (Siqueira *et al.*, 005). Entre 2002 e 2008 ocorreram cerca de 2,5 milhões de casos de dengue no País (SVS 2009). No ano de 2009, até o dia 14 de abril, foram notificados 172.196 casos de dengue no país. Foram confirmados 374 casos de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD), com 29 óbitos e 598 casos de Dengue com Complicação (DCC) com 17 óbitos (SVS 2009).

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) é principal transmissor do vírus da dengue no Brasil, e a dificuldade de um controle específico deste mosquito tem agravado drasticamente a transmissão de dengue no país. A endemicidade desta doença em várias regiões do território brasileiro tem servido de alerta para o controle dos mosquitos transmissores do vírus. Principalmente, porque o surgimento de populações resistentes a inseticidas químicos tem ocasionado sérios problemas para o seu controle. Alteração na susceptibilidade tem sido detectada para todas as classes de inseticidas, afetando diretamente a re-emergência das doenças transmitidas por vetores (Brogdon & McAllister, 1998).

Uma alternativa para evitar alteração no status de susceptibilidade é a utilização de derivados botânicos. Os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis no meio ambiente, além de apresentarem baixa toxicidade para mamíferos e outros organismos não alvos (Tare *et al.*, 004). Logo, as plantas oferecem uma

fonte alternativa de controle porque contêm uma série de bioativos químicos. O óleo de algumas plantas tem sido avaliado em vários estudos para o controle de larvas e adultos de diversas espécies de mosquitos (Silva *et al.*, 006; Rossi *et al.*, 007; Prophiro *et al.*, 008; Prophiro, 2008).

Dentre estas plantas, destacam-se espécies do gênero *Copaifera* (Linnaeus, 1762) (*Copaíba*) que pertence à família Leguminosae. Árvores do gênero *Copaifera* são nativas da região tropical da América Latina e também da África Ocidental. Na América Latina são encontradas espécies na região que se estende do México ao norte da Argentina (Veiga & Pinto 2002).

Com relação a estudos envolvendo propriedades inseticidas do óleo de copaíba, Silva *et al.*, 2003) avaliaram *Copaifera reticulata* sobre populações de *Cx. quinquefasciatus*. Geris *et al.*, (2008), Silva *et al.*, 2008) e Mendonça *et al.*, 2005) analisaram o efeito de *C. reticulata* e *C. langsdorffi*, respectivamente, em populações de laboratório de *Ae. aegypti*.

Os resultados obtidos até o momento, com o óleo de *Copaifera* sobre *Ae. aegypti*, confirmam a importante atividade larvicida dessa espécie de planta. Entretanto, o efeito de concentrações subletais deste óleo sobre o desenvolvimento de imaturos de *Ae. aegypti* ainda permanece desconhecido.

OBJETIVOS

Avaliar a influência de doses sub-letais (CL₅₀, CL₁₀ e CL₅₀) do óleo de *Copaifera* sp., sobre o desenvolvimento de imaturos de *Ae. aegypti* (Rockefeller), sob temperatura constante.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos óleos

Óleo - resina de *Copaifera* foi coletado através de perfurações no tronco de *Copaifera multijuga* e *Copaifera reticulata* pela cooperativa Amazoncop, formada por cinco sociedades indígenas em Altamira, Pará - Brasil.

Preparo das Soluções

Para o preparo da solução principal contendo óleo de *Copaifera*, este foi pesado e dissolvido em água em temperatura de 40°C, utilizando como promotor da solubilidade o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 2%. O grupo controle foi realizado com quatro réplicas de DMSO na concentração de 2% dissolvidos em água e quatro réplicas somente com água.

Efeito Subletal

Para verificar o efeito subletal do óleo de *Copaifera* foram utilizadas as concentrações correspondente a CL₅₀, CL₂₀ e CL₁₀, previamente calculadas para a temperatura de 25°C. O preparo das soluções seguiu como descrito anteriormente. Para óleo de copaíba as concentrações foram CL₅₀: 48 mg/L, CL₂₀: 32 mg/L e CL₁₀: 26 mg/L. Prepararam - se três réplicas, cada uma contendo 500 mL da solução em recipientes plásticos com capacidade de 1.000 mL. Para a alimentação das larvas e possível desenvolvimento ao estágio adulto, adicionou - se ração para gatos Purina® Cat Chow® triturada (0,36 g) em cada réplica. Trezentas larvas de terceiro instar final e quarto inicial foram colocadas em cada réplica, totalizando 900 larvas por bioensaio. Posteriormente, os recipientes foram acondicionados à temperatura de 25°C com umidade relativa de 80% (±10%), em câmara climatizada modelo 132FC marca ELETROlab®. O comportamento larval, alimentação, presença de exúvias, mudança de estágio, eclosão de adultos, mobilidade alterada, debilidade e mortalidade foram verificados diariamente até a possível obtenção de adultos. As larvas sobreviventes foram deixadas na água tratada até a possível emergência dos adultos. Não foram adicionadas novas larvas sadias. A cada 96 horas foi adicionado 0,36g de ração para gatos Purina® Cat Chow® triturada, por réplica, e a solução foi misturada por 15 segundos. O mesmo procedimento foi realizado com os grupos controle de somente água, água mais polisorbato 80 e água mais DMSO.

RESULTADOS

A partir do 4º dia de tratamento as larvas expostas à concentração letal 50% e 20% sobreviventes, apresentaram - se em sua maioria debilitadas ou com mobilidade alterada. Presença de exúvias larvais foram verificadas a partir 12º dia de tratamento para a CL₅₀ e 10º dia para a CL₂₀. Desenvolvimento ao estágio de pupa foi observado após 16º para a CL₅₀ e 14º para a CL₂₀.

Na concentração letal de 48 mg/L (CL₅₀), das 900 larvas expostas, 153 se desenvolveram ao estágio de pupa. Porém, destas 153 pupas, 79 não se desenvolveram ao estágio adulto. Do restante de pupas, 49 iniciaram a eclosão ao estágio adulto, contudo, não conseguiram completá - la. Apenas 25 larvas alcançaram o estágio adulto, aparentemente sem alterações morfológicas externas.

Na concentração letal de 32 mg/L (CL₂₀), das 900 larvas expostas, 198 se desenvolveram ao estágio de pupa. Entretanto, destas 198 pupas, 67 não se desenvolveram ao

estágio adulto. Do restante de pupas, 41 iniciaram a eclosão ao estágio adulto, contudo, não conseguiram completar a eclosão. Das 900 larvas expostas, apenas 90 chegaram ao estágio adulto, aparentemente sem alterações morfológicas externas.

As larvas expostas à concentração letal de *Copaifera* que ocasiona a morte de 10% das larvas (CL₁₀: 26 mg/L) em 24 horas de exposição, apresentaram mortalidade baixa. As larvas sobreviventes desenvolveram - se ao estágio de pupa a partir do 13º dia e adulto a partir do 16º dia. No estágio de pupa também houve mortalidade baixa. Nesta concentração, das 900 larvas expostas, 314 chegaram ao estágio adulto aparentemente sem alterações morfológicas externas.

Nos grupos controle, de água mais DMSO e somente água, não houve mortalidade larval em 24 horas e as larvas desenvolveram - se ao estágio de pupa e, em seguida, adulto entre 48 e 120 horas. Em todas as concentrações utilizadas (CL₅₀, CL₂₀ e CL₁₀) do óleo de *Copaifera* foi observado que não houve alimentação larval equivalente a dos grupos controle.

As concentrações subletais (CL₅₀ e CL₂₀) de *Copaifera* inibiram a emergência de adultos, além de prolongarem o estágio imaturo. Apenas 2,7% e 10% das larvas expostas a estas concentrações se desenvolveram ao estágio adulto, respectivamente. Além de inibir o estágio adulto, estas concentrações atrasaram consideravelmente o desenvolvimento larval quando comparado aos grupos controle. Na concentração subletal CL₁₀ de *Copaifera* foi observado menor mortalidade em larvas e pupas, quando comparada às concentrações subletais CL₅₀ e CL₂₀. Do total de 900 larvas, expostas a esta concentração, 34,9% se desenvolveram ao estágio adulto. Nos grupos controle, de água mais DMSO e somente água, a emergência de 91,2% e 93,9% de adultos ocorreu entre 48 e 120 horas, respectivamente. Não houve diferença significativa na razão sexual observada nas concentrações subletais avaliadas, contendo óleo de *Copaifera*, e nos grupos controle de DMSO e água.

As mortalidades causadas por concentrações subletais de *Copaifera* foram observadas, principalmente, entre a troca de instar larval, larval - pupal e pupal - adulto. As percentagens de indivíduos expostos às concentrações subletais de *Copaifera*, que não conseguiram alcançar o estágio de pupa e adulto, poderiam estar diretamente relacionadas a anormalidades causadas por distúrbios nos hormônios reguladores de crescimento. Estes distúrbios são ocasionados pela ação dos diversos componentes químicos presentes nos produtos derivados botânicos, atuando de forma sinérgica, certamente estes componentes são limonóides (Prophiro, 2008). Anormalidades morfogenéticas, causadas por extratos botânicos, já foram reportadas por Shaalan *et al.*, 2005.

Portanto, na ausência de produtos que possuam compostos altamente letais, um produto de origem botânica capaz de prolongar o desenvolvimento de imaturos e inibir a eclosão de adultos pode ser essencial no controle de vetores. O prolongamento do estágio imaturo de *Ae. Aegypti* em campo além de diminuir o número de gerações, o deixará exposto por um período maior de tempo a condições adversas.

Conforme Shaalan *et al.*, (2005), a aplicação de produtos naturais em doses sub - letais podem não só levar a novas estratégias de controle, mas podem inibir o desenvolvi-

mento de resistência dos insetos aos inseticidas sintéticos existentes. Assim, os resultados obtidos nestes bioensaios confirmam o potencial larvicida e o considerável efeito inibidor da emergência do adulto, causados pelo óleo de *Copaifera* sobre *Ae. Aegypti*.

CONCLUSÃO

Conclui - se que o óleo de *Copaifera* sp. em concentrações subletais ocasiona alterações no período de desenvolvimento de *Ae. Aegypti*, que prolonga o estágio imaturo e provoca alterações morfológicas que inviabilizam a emergência de adultos, demonstrando a eficácia deste óleo no controle do vetor do vírus da dengue.

REFERÊNCIAS

- Brogdon, W.G. & Mcallister, J.C. 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerging Infectious Diseases* 4: 605 - 613.
- Geris, R., *et al.*, 2008. Diterpenoids from *Copaifera reticulata* Ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 50: 25 - 28.
- Mendonça, F.A., *et al.*, 2005. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia* 76: 629 - 636.
- Prophiro, J. S. *et al.*, 2008. Estudo Comparativo do Efeito Larvicida de Extratos de Frutos Verdes e Maduros de *Melia azedarach* L. (Sapindales: Meliaceae) em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *BioAssay* 3:2.
- Prophiro, J.S. 2008. Acessibilidade: Susceptibilidade de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) a Organofosforado e Atividade Inseticida de Produtos de Origem Botânica. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- Rossi, J. C. N. *et al.*, 2007. Efeito Larvicida de Extratos Etanólicos de Folhas Secas e Frutos Maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Aedes albopictus*. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26:737 - 40.
- Shaalán, E.A.S., D.V. Canyon, M.W.F. Younes, H.A. Wahab & A.H. Mansour. 2005. Effects of sub - lethal concentrations of synthetic insecticides and *Callitris glaucophylla* extracts on the development of *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology* 30: 295 - 298.
- Silva, I.G., V.O.M. Zanon & H.H.G. Silva. 2003. Larvicidal activity of *Copaifera reticulata* ducke oil - resin against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology* 32: 729 - 732.
- Silva, O.S., *et al.*, 2006. Larvicidal effect of andiroba oil *Carapa guianensis* (Meliaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of the American Mosquito Control Association* 22: 699 - 701.
- Silva, W.J., *et al.*, 2008. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource Technology* 99: 3251 - 3255.
- Siqueira, J.B *et al.*, 2005. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981 - 2002. *Emerging Infectious Diseases* 11: 48 - 53.
- SVS/MS. 2005c. Dengue - Boletim da semana 52 / 2005. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_dengue_52.pdf>. Acessado em: 29 out 2008.
- SVS/MS. 2009a. Informe epidemiológico 08/2009. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_dengue_20deabril.pdf> Acessado em: 2 - abr 2009.
- SVS/MS.2009a. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/Gestor/visualizar_texto.cfm?idtxt=2762>. Acessado em: 2 - abr 2009.
- Tare, V. *et al.*, 004. Susceptibility of two different strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to plant oils. *J Econ Entomol.* 97:1734 - 1736.
- Veiga, V.F. & Pinto A.C. 2002. O Gênero *Copaifera* L. *Química Nova* 25: 273 - 286.