

**Programa de Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional  
Universidade Anhanguera-Uniderp**

**Suellem Petilim Gomes**

**Avaliação insetistática do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ovos e  
ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus* Lent,  
1954 (Hemiptera: Reduviidae)**

**Campo Grande - MS**

**2011**

**Suellem Petilim Gomes**

**Avaliação insetistática do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ovos e ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em nível de Mestrado Acadêmico em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade Anhanguera-Uniderp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Orientação: Prof. Dr. Silvio Favero

**Campo Grande – MS**

**2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Anhanguera – Uniderp

G617a            Gomes, Suellem Petilim.  
                    Avaliação insetistática do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*  
                    em ovos e ninfas de 3º e 4º estágio de desenvolvimento de *Rhodnius*  
                    *neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae. / Suellem Petilim  
                    Gomes. -- Campo Grande, 2011.  
                    50f. il. color

                    Dissertação (mestrado) – Universidade Anhanguera - Uniderp,  
                    2011.  
                    “Orientação: Prof. Dr. Silvio Favero.”

                    1. Eucaliptos 2. Inseticidas botânicos 3. Triatomíneos 4. Doença de  
                    chagas. I. Título.

CDD 21.ed. 636.9

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

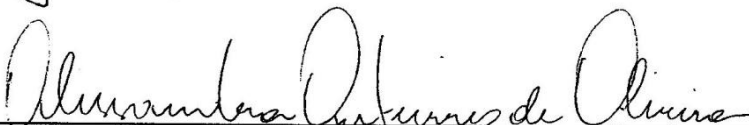
Candidata: **Suellem Petilim Gomes**

Dissertação defendida e aprovada em 15 de junho de 2011 pela Banca Examinadora:



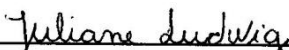
---

Prof. Doutor **Silvio Favero (Orientador)**  
Doutor em Proteção de Plantas



---

Profa. Doutora **Alessandra Gutierrez de Oliveira (UFMS)**  
Doutora em Entomologia Médica



---

Profa. Doutora **Juliane Ludwig (Universidade Anhanguera – Uniderp)**  
Doutora em Fitossanidade

Dedico este trabalho aos meus pais, Marilene Petilim Gomes e Antônio Esteves Gomes e ao meu amor, Alex M. Melotto.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pelo seu infinito amor e infinita misericórdia, sem ele jamais conseguiria terminar este trabalho.

Aos meus pais, meu eterno agradecimento pela oportunidade que me proporcionaram, pela paciência infinita, pelo apoio, pela base incondicional.

Ao meu querido orientador, por sempre acreditar no meu potencial, pelo incentivo e profissionalismo exemplar. O meu muito obrigado.

Ao Alex, pelo seu amor, sua paciência, conselhos e incentivos nas horas mais difíceis, e por seu grande apoio na busca por este sonho. Amo você.

Às minhas grandes amigas, Lilian, Taciany, Mariane, Adrieli e Marcela, minhas colegas de trabalho, que me ajudaram incondicionalmente, pelo apoio e amizade.

Ao professor Doutor Valdemir Laura pelos materiais concedidos, conselhos e apoio profissionais. Vamo que vamo!

À professora Vânia Nunes, pelo apoio e companheirismo, na concessão dos triatomíneos através de seus contatos.

À professora Alessandra Gutierrez pelos ensinamentos na disciplina especial.

Aos laboratórios de Morfologia, Entomologia e a Embrapa Gado de Corte pelos materiais concedidos.

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
3.1 Etiologia e Ciclo Biológico do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	5
3.2 Ciclo no hospedeiro invertebrado .....	6
3.3 Ciclo no hospedeiro vertebrado .....	8
3.4 Epidemiologia da Doença de Chagas.....	9
3.5 Ordem Hemiptera-Heteroptera – Morfologia, Biologia e Fisiologia .....	11
3.6 Triatomíneos com importância vetorial .....	15
3.7 A espécie <i>Rhodnius neglectus</i> Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae) .....	16
3.8 Controle vetorial.....	17
3.9 Metabólitos secundários .....	19
3.10 Óleos essenciais.....	21
3.11 Óleos essenciais com propriedades inseticidas.....	23
3.12 O Gênero <i>Eucalyptus</i> .....	24
3.13 Óleo Essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae).....	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
CAPÍTULO II .....	33
<b>AVALIAÇÃO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>EUCALYPTUS UROGRANDIS</i> EM OVOS E NINFAS DE 3º E 4º ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO DE <i>RHODNIUS NEGLECTUS</i> LENT, 1954 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) .....</b>	<b>33</b>
RESUMO .....	35
ABSTRACT: .....	36
Introdução .....	37
Material e Métodos.....	38
Resultados e Discussão.....	39
Conclusão .....	46
Referências Bibliográficas.....	47

## RESUMO

A espécie *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae) é um importante vetor secundário da doença de Chagas encontrado frequentemente no peridomicílio e intradomicílio humano. A resistência desses insetos aos inseticidas utilizados no seu controle é relatada em países da América Latina e por isso buscam-se novos modelos moleculares na diversidade química das plantas. Assim foi avaliada a ação inseticida do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ovos e ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*, em condições de laboratório. Para o teste tópico a mortalidade foi avaliada com doses letais de  $DL_{50}=0,1731$   $\mu\text{L/inseto}$  e  $DL_{99}=0,2948$   $\mu\text{L/inseto}$  em 24 horas, e  $DL_{50}=0,1575$   $\mu\text{L/inseto}$  e  $DL_{99}=0,3438$   $\mu\text{L/inseto}$  em 48 horas. No bioensaio de fumigação as concentrações letais foram de  $CL_{50}=0,021$  mL/mL de ar e  $CL_{99}=0,1525$  mL/mL de ar em 24 horas. Para superfície de contato não foi possível ajustar a curva no período de 48 e 72 horas devido à alta mortalidade. O óleo apresentou repelência de 80% às ninfas, no entanto, após 24 horas não foi detectado o efeito repelente. O óleo essencial de *E. urograndis* apresentou uma alta atividade inseticida para as ninfas. No bioensaio ovicida o óleo essencial não apresentou ação nos ovos nas concentrações testadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Eucaliptos, inseticidas botânicos, triatomíneos, doença de Chagas.



## ABSTRACT

*Rhodnius neglectus* species (Hemiptera: Reduviidae) is an important secondary vector of Chagas disease often found around, in and outdoor human houses. The insects resistance to insecticides used in their control is reported in Latin America countries and the researchers look for models in molecular chemical diversity of plants. So was assessed the insectistatic action of essential oil of *Eucalyptus urograndis* on eggs and nymphs of 3rd and 4th stage of development of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. To the topic test, the was assessed with lethal doses of  $LD_{50} = 0,1731 \mu\text{L/insect}$  and  $LD_{99} = 0,2948$  for 24 hours and  $LD_{50} = 0,1575 \mu\text{L/insect}$  and  $LD_{99} = 0,3438 \mu\text{L/insect}$  for 48 hours. The fumigation bioassay the lethal concentrations were  $LC_{50} = 0,021 \text{ mL/mL air}$  and  $LC_{99} = 0,1525 \text{ mL/mL air}$  for 24 hours, and contact surface not was possible to adjust the curve during the 48 and 72 hours, due to high mortality. The oil repelled 80% the nymphs, but after 24 hours the repellent effect was not detected. The essential oil of *E. urograndis* presented a high insecticidal activity against nymphs. To the ovicidal bioassay the essential oil didn't show effect for the tested concentrations in the eggs.

**KEY WORDS:** Eucalyptus, botanical insecticides, triatominae and Chagas disease.

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Rhodnius neglectus* é encontrada no Cerrado brasileiro, sendo um importante vetor secundário da doença de Chagas. Essa doença foi totalmente confinada a região das Américas, mas atualmente, estima-se que existam 10 milhões de pessoas infectadas com o *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 em todo o mundo. Não existindo vacinas e nem compostos com ação curativa, a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza um programa de manejo integrado de vetores juntamente com uma gestão ambiental peridomiciliar e utilização de inseticidas, como o método mais útil para prevenir a doença. O parasita pode ser encontrado em diversos reservatórios silvestres e infectar várias espécies de triatomíneos encontrados nas Américas (WHO, 2010).

O controle é feito com inseticidas sintéticos, entretanto a resistência desses insetos a piretróides é relatada no Brasil, Venezuela e na região norte da Argentina. O foco na região norte da Argentina é o mais recente (PICOLLO, 1994; ZERBA, 1999; VASSENA; PICOLLO, 2003; AUDINO *et al.*, 2004; SFARA *et al.*, 2006; WHO, 2009).

Diante dessas dificuldades do controle, buscam-se novas moléculas que possam servir de modelo para novos inseticidas sintéticos, como foram com as piretrinas, nicotina e a rotenona. As plantas são fontes promissoras dessas moléculas devido ao seu uso no combate a herbivoria. Possuem baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação no ambiente e desenvolvimento lento da resistência. Tais moléculas são capazes de repelir, inibir a muda dos triatomíneos e possuem ação triatômica (LAURENT *et al.*, 1997; CHAGAS *et al.*, 2002; COELHO *et al.*, 2006).

Algumas pesquisas vêm demonstrando o uso do óleo de espécies do gênero *Eucalyptus* como inseticida, fungicida, moluscida, antimicrobiano, antiviral e com atividade herbicida (SUKONTASON *et al.*, 2004; DA GLÒRIA *et al.*, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2010). Segundo Isman (2006), nos Estados Unidos, o desenvolvimento comercial de inseticidas a base de óleos essenciais são isentos de registro da *United States Environmental Protection Agency* (EPA) sob as regras definidas em 1996 na Lei de Proteção da Qualidade Alimentar. Isto tem estimulado o desenvolvimento desses inseticidas e muitas empresas privadas como a EcoSmart

Technologies®, tem produzido inseticidas utilizando óleos essenciais com 100% de segurança.

Os compostos secundários encontrados em óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* possuem atividade insetistática, ou seja, provocam diversas alterações nos insetos, como inibição da oviposição, do crescimento e da alimentação, repelência, alterações morfogenéticas, alterações do sistema hormonal, do comportamento sexual, mortalidade entre outros (CHAGAS *et al.*, 2002). Este gênero é uma espécie florestal largamente plantada no mundo todo e no Brasil existem cerca de 4.515.730 de hectares plantados. De todas as espécies e variedades desse gênero, cerca de 20 espécies são exploradas comercialmente para produção de óleos essenciais (ABRAF, 2010).

Com o objetivo de verificar a ação insetistática do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) foram utilizados triatomíneos da espécie *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae) nos bioensaios preconizados pela WHO (2002). No primeiro capítulo temos uma breve revisão bibliográfica sobre a importância social da doença de Chagas, etiologia do parasita, morfologia, fisiologia e ecologia do vetor. Além da descrição da doença, há também uma sucinta descrição sobre os óleos essenciais e o gênero *Eucalyptus*. No segundo capítulo, o artigo científico descreve os métodos utilizados, e os resultados do controle natural desse triatomíneo.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF**, 2010, ano base 2009/ ABRAF, 2010.

ARAÚJO, F. O. L.; RIETZLER, A. C.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; CARAZZA, F.; VIEIRA FILHO, S. A. Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Mirtaceae). **Química Nova**, v. 33, n. 7, p.1510-1513, 2010.

AUDINO, P. G.; VASSENA, C.; BARRIOS, S.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p.335-339, 2004.

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

COELHO, A. A. M; PAULA, J. E. de ; ESPINDOLA, L. S. Insecticidal activity of Cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p.133-138, 2006.

DA GLORIA, E.M.; MENGAI, B.; ALMEIDA, G. E; MAZOTTI, N. C. C; DIAS, C. T. S.; MOREIRA, R. M.; VIEIRA, I. G.; SILVA, M.F.G.F.; SILVA, S. C.; DOMINGUES, M. A. C. Effect of essential oils from *Eucalyptus* on the growth of aflatoxigenic species. **Julius-Kühn-Archiv**, v. 425, n. 1, 2010.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review Entomology**, v. 51 n.1, p. 45–66, 2006.

LAURENT, D.; VILASECA, L. A.; CHANTRAINE, J. M.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R. Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. **Phytotherapy Research**, v. 11, n.1, p.285–290, 1997.

PICOLLO, M. I. Métodos de detección y monitoreo de resistencia en Triatominos. **Acta Toxicologica Argentina**, v. 2, n. 56, p.8, 1994.

SFARA, V.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1001, n.1, p.89-84, 2006.

SUKONTASON, K. L.; BOONCHU, N.; SUKONTANSON, K.; CHOOCHOTE, W. Effects of eucalyptol on house fly (Diptera: Muscidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae). **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 2, p.97-101, 2004.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. Revista Toxicología en línea, 2003. Disponible em: <<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=19>>. Acceso em 01 de março de 2011.

WHO, World Health Organization. **Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Triatoma infestans***. TDR. Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas. 2002.

WHO. World Health Organization. **Innovative vector control interventions**. TDR Business Line 5. 2009.

WHO, World Health Organization. Programmes and Projects. **Fact sheets. N° 340/ JUNE 2010**. Disponible em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acceso em 24 de fevereiro de 2011.

ZHANG, J.; AN, M.; WU, H.; STANTON, R. LEMERLE, D. Chemistry and bioactivity of Eucalyptus essential oils. **Allelopathy Journal**, v. 25, n. 2, p.313-330, 2010.

ZERBA, E.N. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. **Medicina**, v. 59, n. 1, p.41-46, 1999.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Etiologia e Ciclo Biológico do *Trypanosoma cruzi*

A doença de Chagas é uma doença infecciosa parasitária, produzida pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. Este protozoário foi encontrado pela primeira vez pelo médico brasileiro, Carlos Chagas (1878-1934), no intestino de triatomíneos, em 1908, na cidade de Lassance, Minas Gerais. Chagas conseguiu um fato raro na história da medicina, pois conseguiu estabelecer a etiologia, descrever o ciclo parasitário, a doença, seu diagnóstico e ainda identificou os reservatórios domésticos e silvestres da tripanossomíase (COURA; DIAS, 2009).

O *T. cruzi* pertence à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Essa família abrange várias espécies com importante patologia, tanto para animais como para humanos. As espécies *Trypanosoma rhodesiense* e *Trypanosoma gambiense* são agentes causadores da doença do sono; *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma equiperdum* e *Trypanosoma equinum* são parasitos que causam doenças em animais (SOUZA, 2008a).

Existem evidências antigas de *T. cruzi* em múmias de Chinchorro, no Peru, com datações de 9.000 anos, e no Brasil, um corpo mumificado com 7.000 anos. Os dados da paleoparasitologia mostram que o convívio entre homens andinos com animais e triatomíneos corresponde hoje ao território boliviano. Tecidos lesionados identificados em múmias chilenas e peruanas comprovam a infecção chagásica e o início do desenvolvimento da doença de Chagas em populações humanas (ARAÚJO *et al.*, 2008).

O *T. cruzi* apresenta três formas em seu ciclo biológico: amastigota, epimastigota e tripomastigota. A forma amastigota possui flagelo invisível ao microscópio óptico, sua forma é arredondada e encontra-se no interior das células dos indivíduos vertebrados, formando pseudocistos. Já a forma epimastigota, (Figura 1a) possui forma alongada e pode ser encontrado no tubo digestivo do inseto vetor. A forma tripomastigota (Figura 1b) também possui forma alongada, e é altamente infectante, sendo encontrado nos insetos vetores na porção final do intestino, no sangue e no espaço intercelular dos hospedeiros vertebrados (COURA, 2008; CARVALHO, 2008).

A transmissão do protozoário ocorre por alimentos contaminados, transfusão de sangue, por via congênita, manuseio de animais silvestres e domésticos, transplantes de órgãos, acidentes em laboratórios e hospitais e por fezes de hemípteros hematófagos da família Reduviidae, conhecidos vulgarmente por barbeiros, devido à preferência do rosto onde costumam se alimentar (ARGOLO *et al.*, 2008).

O protozoário possui dois hospedeiros, o hospedeiro vertebrado, que são os mamíferos (incluindo o homem) e o hospedeiro invertebrado, que são os insetos reduvídeos.

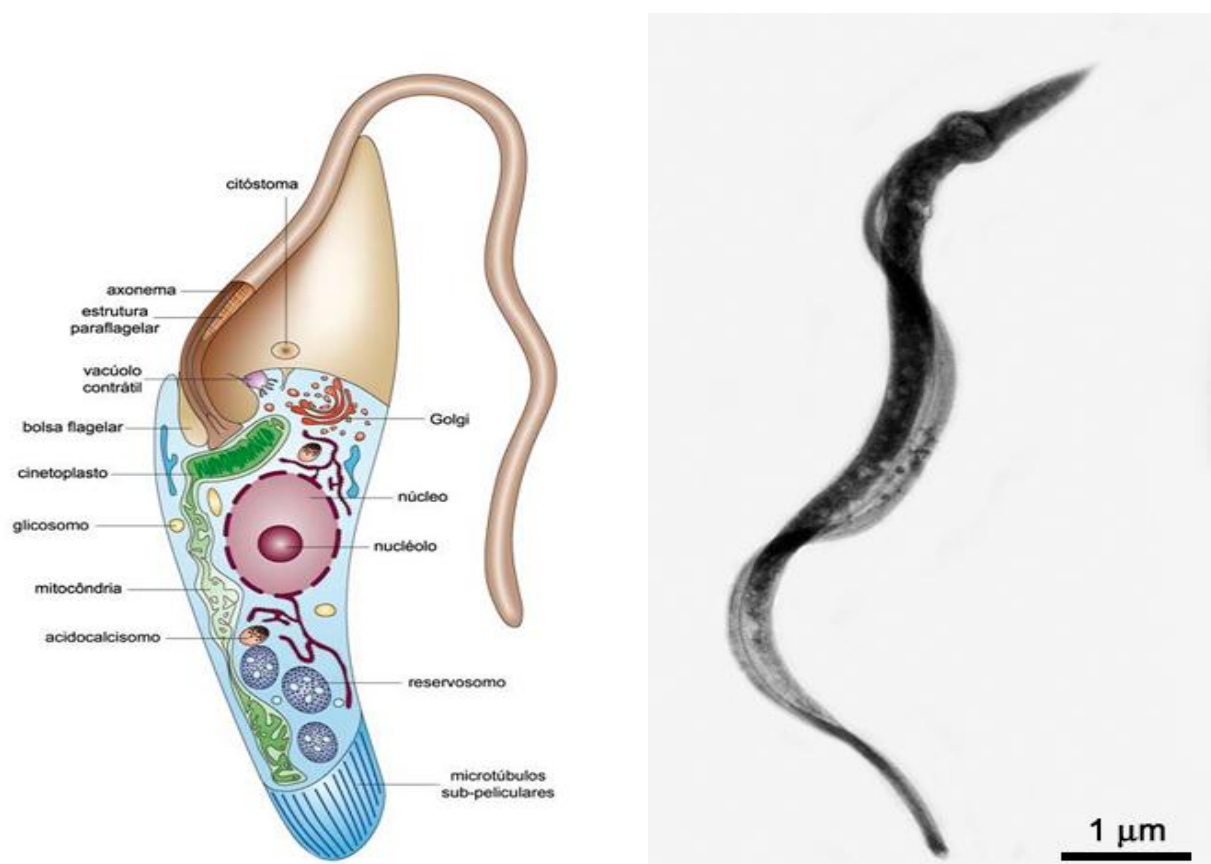


Figura 1. Formas evolutivas de *T. cruzi*: 1a: Epimastigota (esquerda) 1b: Tripomastigota (direita). Adaptado de Souza (2008a).

### 3. 2 Ciclo no hospedeiro invertebrado

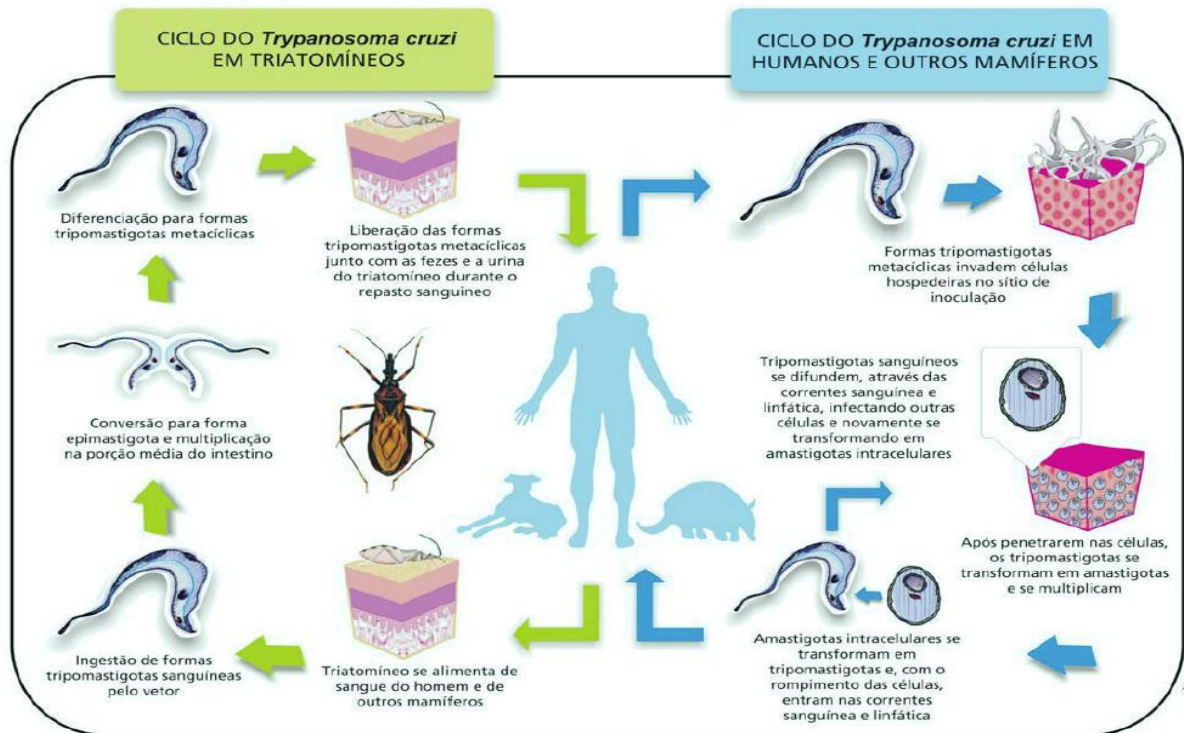
Quando o inseto suga um vertebrado infectado, ingere tripomastigotas sanguícolas, que iniciam o ciclo de desenvolvimento no intestino médio do inseto. Neste local, o parasito se reproduz por fissão binária a cada 22 horas em média,

onde adquire substâncias nutritivas do sangue sugado pelo inseto e assume a forma epimastigota (SCHENKMAN, 2008).

A forma epimastigota possui uma membrana que o protege contra as enzimas que digerem o sangue, e isso permite sua sobrevivência no intestino dos insetos. Quando os epimastigotas são levados para o intestino posterior, o parasito inicia uma nova metamorfose denominada metaciclogênese que envolve mudanças morfológicas e metabólicas, que levam aproximadamente 48 horas. Ao final do processo, o parasito assume a forma tripomastigota metacíclica, altamente infectante, que mede cerca de 17  $\mu\text{m}$  de comprimento e só evolui novamente se parasitar um hospedeiro vertebrado (SCHENKMAN, 2008).

Esses parasitos são liberados com as fezes e urina quando o inseto faz um novo repasto sanguíneo e podem assim entrar em contato com o hospedeiro vertebrado, devido ao prurido no local da picada causado por substâncias presentes na saliva do inseto. O animal ou o homem se coçam e podem-se autoinocular com o protozoário no local ou podem levá-lo a mucosa ocular pelo contato com os dedos. A forma tripomastigota metacíclica possui características de sobrevivência, como capacidade invasiva para mucosas e conjuntivas, sobreviver em altas temperaturas e não serem lisados pelo soro sanguíneo dos mamíferos, portanto é a forma evolutiva mais infectante (SCHENKMAN, 2008; AZAMBUJA; GARCIA, 2008). O ciclo no hospedeiro invertebrado pode ser visualizado na Figura 2.





Ciclo de transmissão do *Trypanosoma cruzi* (simplificado). Infográfico: Venício Ribeiro, ICICT/Fiocruz.

Figura 2. Ciclo de transmissão do *T. cruzi* nos hospedeiros invertebrados e vertebrados (AZAMBUJA; GARCIA, 2008).

### 3. 3 Ciclo no hospedeiro vertebrado

Ao penetrar no corpo dos animais, os parasitas invadem macrófagos, células epiteliais, fibroblastos, entre outras, onde ocorre proliferação intracelular e liberação de formas tripomastigotas e amastigotas. Estes parasitas podem chegar a corrente circulatória e atingir todos os tecidos do hospedeiro, onde vão invadir os mais diferentes tipos celulares (SOUZA, 2008a; COURA, 2008).

Dentro das células, ocorre proliferação celular sob a forma de amastigotas, onde nesse estágio ocorre replicação por divisão binária. Posteriormente, os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas, rompem a célula e invadem novas células ou podem permanecer na corrente sanguínea, completando assim o seu ciclo de vida ao ser ingerido por um triatomíneo (SOUZA, 2008a; COURA, 2008). O ciclo no hospedeiro vertebrado pode ser visualizado na Figura 2.

No quadro clínico da doença distinguem-se duas fases: a fase aguda e a fase crônica. A fase aguda geralmente é assintomática ou oligossintomática, o portador pode não apresentar nenhum sintoma, durante anos, dependendo da cepa do protozoário. Quando os sinais clínicos aparecem podem ser de gravidade variável,

como febre, mal estar, falta de apetite, hepatoesplenomegalia e distúrbios cardíacos, que aparecem de quatro a dez dias após a picada. Quando o parasita penetra na pele, no local da picada ocorre uma reação inflamatória chamado de Chagoma de Inoculação. Quando este penetra na mucosa ocular, promove uma inflamação nas pálpebras conhecido como Sinal de Romanã. Nessa fase o *T. cruzi* pode ser visualizado no sangue periférico através do exame parasitológico direto (ANDRADE, 2008; COURA, 2008).

A fase crônica se manifesta anos depois, e já não se encontra mais os protozoários na corrente sanguínea, e sim nos tecidos cardíaco, digestivo e até mesmo no sistema nervoso, ocasionando alterações irreversíveis nesses locais. Nessa fase, o parasita forma pseudocistos nas células do coração, esôfago, cólon e cérebro. A forma cárdica é a mais importante e 40% dos pacientes apresentam arritmia cardíaca, falta de ar, tonturas, taquicardia, braquicardia, entre outros. Cerca de 30% dos pacientes que apresentam a forma cardíaca chegam a óbito. A forma digestiva leva a dilatação do esôfago (megaesôfago), dificuldade de deglutição e dilatação do cólon (megacólon) (COURA, 2008).

### **3. 4 Epidemiologia da Doença de Chagas**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde cerca de 10 milhões de pessoas no mundo estão infectadas pelo *T. cruzi*, principalmente na América Latina onde a doença de Chagas é endêmica. Nas últimas décadas, essa doença tem sido diagnosticada nos Estados Unidos, no Canadá, nos países europeus e em alguns países do Pacífico Ocidental, devido aos processos de migração humana entre a América Latina e os demais países. Mais de 25 milhões de pessoas no mundo correm o risco de contrair a doença (WHO, 2010).

A doença de Chagas gera um dos maiores problemas de saúde pública, principalmente na América Latina, provocando sintomas crônicos e debilitação progressiva nos indivíduos infectados, altos custos com a previdência social, baixo desempenho da população em idade produtiva e gastos com saúde pública. Os custos com programas de controle e vigilância entomológica e sanitária são elementos que devem ser contabilizados nos gastos financeiros dos países afetados pela doença (DIAS; COURA, 2008).

A endemia dispersou-se nas Américas devido ao desmatamento intensivo, queimadas, diminuição de oferta alimentar, através da caça de animais e a poluição dos ambientes naturais. A redução dos ecótopos naturais obriga o inseto a invadir áreas domiciliadas na busca por abrigo e alimento, sendo que essa migração se intensificou no século XVI com a expansão agrícola e pecuária. A ineficiente política social, aliada ao sistema de saúde falho com a população pobre e miserável vivendo em casas precárias e mal construídas são retratos da distribuição da doença de Chagas na América Latina (SILVEIRA, 2000).

Os países pertencentes à América Latina podem ser classificados em quatro grupos com características epidemiológicas diferentes, segundo Coura e Dias (2009). Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Equador, Honduras, Paraguai, Venezuela, Peru e Uruguai são países que podem ser agrupados no Grupo I, onde a incidência da cardiopatia chagásica crônica é alta e existe uma ausência da forma digestiva da doença. Na Bolívia existem áreas restritas onde o *Triatoma infestans* Klug, 1834 ainda não foi eliminado e por outro lado, em países como Brasil, Chile e Uruguai essa espécie está eliminada (COURA; DIAS, 2009).

No Grupo II estão inclusos Colômbia, Costa Rica e México que se caracteriza pela prevalência de doadores de sangue infectados e programas de controle vetorial ineficientes. Em El Salvador, Guatemala, Nicarágua e Panamá encontram-se ciclos domésticos, peridomésticos e silvestres pouco conhecidos e somente em 2009 iniciaram-se ações de controle da doença nesses países, que compõe o grupo III (COURA; DIAS, 2009).

No Grupo IV estão inclusos as Antilhas, Bahamas, Belize, Cuba, Guiana, Guiana Francesa, Haiti, Jamaica e Suriname. Também fazem parte dessa lista várias regiões anteriormente consideradas livres da doença, como a Bacia Amazônica e a região do Chaco na Argentina e Bolívia, onde existem relatos de re-emergência da doença (COURA; DIAS, 2009; WHO, 2010).

Não existe vacina para a doença, e os medicamentos não são totalmente eficazes, além disso, muitas cepas do protozoário não respondem ao tratamento com as drogas comerciais. Atualmente há apenas dois medicamentos utilizados para o tratamento, o nifurtimox e o benznidazol, que provocam reações adversas fortes em 40% dos pacientes. O controle vetorial é o método mais eficaz de prevenir

a doença, uma vez que os reservatórios do protozoário são na maioria, animais silvestres, o que significa que a doença não pode ser erradicada (WHO, 2010).

### 3.5 Ordem Hemiptera-Heteroptera – Morfologia, Biologia e Fisiologia

Os triatomíneos são insetos que fazem parte da ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae (Quadro 1) com 18 gêneros e 138 espécies. São conhecidos vulgarmente como barbeiros, chupões (Paraíba), vum-vum (Bahia), chupança (Mato Grosso), *vinchucas* (Bolívia, Uruguai, Paraguai, Chile, Argentina), *chinha voladora* (México), *kissing bugs* (Estados Unidos) e *Chipo* ou *Pito* (Venezuela e Colômbia) (ARGOLO *et al.*, 2008; GALVÃO, 2008).

São insetos grandes, medindo de 1 a 4 centímetros de comprimento (Figura 3), muitos possuem coloração preto ou marrom escuro, que contrasta com o amarelo, vermelho ou laranja do conexivo. Na cabeça localiza-se a maioria dos órgãos sensitivos, como antenas, olhos compostos e ocelos, bem como o aparelho bucal. No tórax podem-se encontrar os apêndices locomotores, patas e asas, e no abdômen, a genitália em sua porção posterior. Essa ordem compreende insetos que possuem aparelho bucal picador-sugador e asas hemiélitro. A parte basal da asa é espessada e coriácea e a apical é membranosa. Devido a essa característica, o nome da ordem (*Hemi=metade, ptera=asa*) (REY, 1991).

Quadro 1. Classificação taxonômica dos triatomíneos.

<b>Categorias Taxonômicas</b>	<b>Taxa</b>
Filo	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordem	Hemiptera
Subordem	Heteroptera
Família	Reduviidae
Subfamília	Triatominae
Gêneros*	<i>Panstrongylus, Triatoma, Rhodnius</i>

\* Alguns gêneros com importância vetorial.

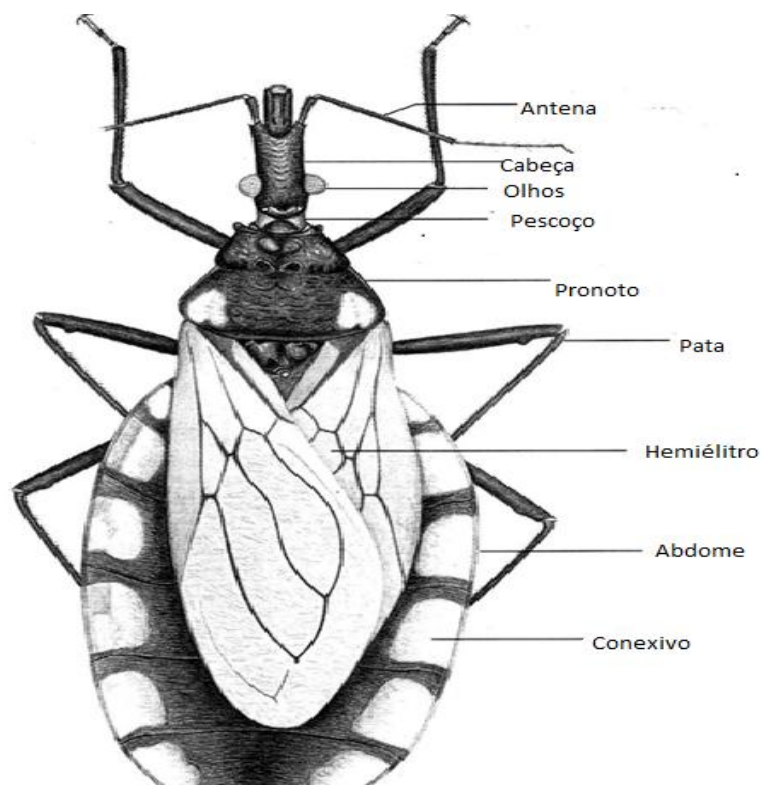


Figura 3. Morfologia externa de um triatomíneo (GALVÃO, 2008).

Na base das antenas dos triatomíneos existe o tubérculo antenífero, sendo sua posição importante para a identificação de três gêneros com maior importância vetorial. Quando os tubérculos anteníferos estão inseridos perto dos olhos e a cabeça é curta, o gênero é *Panstrongylus*. Por outro lado, quando inseridos no meio da região antecular os insetos pertencem ao gênero *Triatoma* e próximo a extremidade anterior da cabeça longa e estreita, o gênero é *Rhodnius* (Figura 4) (ARGOLO *et al.*, 2008).

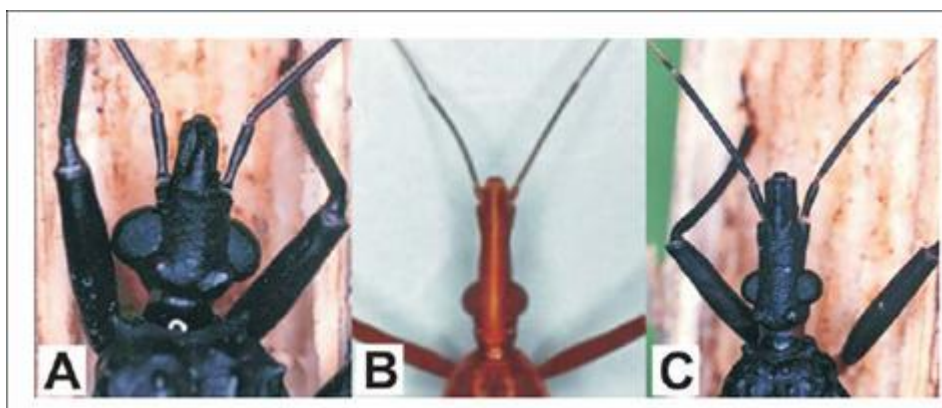


Figura 4. Diferenças dos gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* através dos tubérculos anteníferos. A: *Panstrongylus*; B: *Rhodnius*; C: *Triatoma*. ARGOLO *et al.*, (2008).

O desenvolvimento é hemimetabólico (metamorfose incompleta) com estágio de ovo, cinco estágios ninfais e fase adulta. No terceiro estágio é possível visualizar manchas alares, no meso e metatórax, que no quarto e quinto estágios passam a ser denominadas tecas alares. Os adultos se diferenciam das ninfas apenas por apresentarem asas e genitália formada (GONÇALVES; COSTA, 2008).

A ordem Hemiptera-Heteroptera possui peças bucais pungitivas que ficam repousadas em uma bainha chamada rostro que quando não utilizada, permanece dobrada ventralmente sob a cabeça do inseto. Alguns hemípteros possuem grande importância na agricultura, pois sugam seiva de plantas tendo seu rostro contendo quatro segmentos. Outros podem ser entomófagos ou predadores, pois sugam a hemolinfa de outros insetos, e apresentam rostro com três segmentos e em forma de arco. Mas os que possuem importância médico-social são os hemípteros hematófagos, cujo rostro é retilíneo, com três segmentos (GONÇALVES; COSTA, 2008; SILVA, 2009).

A hematofagia é obrigatória e ocorre em todas as fases, em ambos os sexos. Os triatomíneos retiram o sangue diretamente dos vasos sanguíneos, sendo considerados solenófagos. São dependentes da hematina e da ferroporfirina, necessárias para seu crescimento, mas são incapazes de sintetizá-las. As fêmeas necessitam também do sangue para o amadurecimento dos seus folículos ovarianos. Para que ocorra a mudança de estágio é necessário que ocorra pelo menos um repasto sanguíneo, com o intuito de haver uma distensão abdominal para estimular as células secretoras, que ativam a produção de hormônios da muda (ecdisona) e do crescimento (hormônio juvenil) (LOROSA *et al.*, 2003; GONÇALVES; COSTA, 2008).

Durante o dia os triatomíneos permanecem escondidos, saindo à noite para se alimentarem. Sua picada é indolor, devido a compostos que atenuam a geração de potencial elétrico nos nervos, que atuam nos canais de sódio, diminuindo assim a sensibilidade da região, o que produz uma anestesia local. Sua saliva é composta também por substâncias anti-hemostáticas, que possuem moléculas vasodilatadoras, anticoagulantes e antiplaquetárias, que favorece o sucesso da hematofagia desses insetos (SILVA, 2009).

O tempo de alimentação é de 20 a 30 minutos e em algumas pessoas a picada pode provocar reações alérgicas intensas. O abdome é achatado

dorsoventralmente e pode se distender graças ao conexivo, situado entre os escleritos dorsais e ventrais, pouco quitinizado e possui coloração variada entre as espécies. Os triatomíneos podem ingerir grande quantidade de sangue, de 0,5 a 3,0 mL, sendo que os adultos ingerem cerca de três vezes o seu peso corporal e as ninfas de seis a 12 vezes o seu peso. Esses insetos acumulam reservas nutritivas denominadas corpo gorduroso, encontrado na hemocele. Tal acúmulo permite que esses insetos sobrevivam a períodos de jejum, que pode variar entre as espécies, podendo assim se esconder e fugir dos períodos de tratamento químico direcionados ao controle vetorial, como borrifação de paredes, coleta, entre outros (GONÇALVES; COSTA, 2008).

O abdome desses insetos possui 11 segmentos completos, sendo o 10° e 11° segmentos correspondentes ao tubo anal e ânus. As fêmeas distinguem-se dos machos por apresentarem o ovipositor, no final do abdome, onde o conexivo é chanfrado (Figura 5). Os machos apresentam o pigóforo, onde estão localizados os órgãos copuladores (GONÇALVES; COSTA, 2008). Algumas espécies depositam seus ovos livres ou em algum substrato, através de substâncias adesivas, em folhas de palmeiras (gênero *Rhodnius*), penas de aves, entre outros. A oviposição ocorre 10 a 30 dias após a cópula e o número de ovos varia de acordo com a espécie.



Figura 5. Diferenças entre as genitálias de triatomíneos. Nos machos o conexivo é contínuo e nas fêmeas é interrompido, mostrando o ovipositor. (ARGOLO *et al.*, 2008).

O sistema digestivo se inicia com as mandíbulas e maxilas e é dividido em três segmentos: intestino anterior, médio e posterior. As mandíbulas possuem canais, um superior destinado a passagem do sangue e outro inferior, por onde ocorre a passagem da saliva anticoagulante. Logo após esse canal, encontra-se a faringe, especializada na sucção do sangue e o esôfago que continua até o intestino médio. O intestino médio dilata-se e forma o proventrículo e o estômago, onde

ocorre a digestão do sangue e é coberto internamente por uma membrana peritrófica que protege as células contra o conteúdo intestinal e contra a invasão de patógenos (SANTOS-MALLETE; GOMES, 2008). Após o repasto, os triatomíneos defecam, muitos ainda sobre o hospedeiro, o que aumenta a chance de transmissão do parasito, caracterizando um alto potencial vetorial.

### 3.6 Triatomíneos com importância vetorial

Mais de 130 espécies de triatomíneos conhecidos possuem potencial como vetor de *T. cruzi*, destas 52 já foram descritas sendo de importância epidemiológica devido a sua domiciliação. Os gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* são os mais importantes porque apresentam capacidade de se desenvolverem dentro do ambiente das casas, no peridomicílio ou semidomiciliadas. Estes insetos podem ser encontrados em frestas e buracos nas paredes, galinheiros, chiqueiros, embaixo de colchões, ninho de aves, entulho de lenha, tijolos, entre outros. Qualquer esconderijo onde a temperatura não varie muito pode ser um lugar propício para encontrá-los (DIOTAIUTI, 2008; COURA, 2009).

Os triatomíneos se alimentam de muitos mamíferos silvestres como marsupiais, edentados, roedores, primatas, lagomorfos, morcegos, preguiças. Muitos desses animais estão naturalmente infectados pelo *T. cruzi* sendo considerados reservatórios silvestres. Tanto a manipulação da caça ou consumo de carne mal cozida desses animais podem ser fonte de infecção deste protozoário (DIOTAIUTI, 2008).

Muitas espécies são endêmicas de algumas regiões da América Latina, inclusive do Brasil. A espécie *Triatoma brasiliensis* Lent & Wygodzinsky, 1979 pode ser encontrada nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Tocantins e Goiânia; *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, no norte de Minas Gerais e sul da Bahia; *Triatoma juazeirensis* Costa & Felix, 2007 no estado da Bahia; *Triatoma petrochii* Pinto & Barreto, 1925 nos estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia. Ainda existem focos de *T. infestans* na Argentina, Bolívia, Chile, Equador, Paraguai, Peru e Uruguai. No Brasil esses focos se restringem ao sudeste do Piauí, sul do Tocantins, nordeste de Goiânia, oeste da Bahia e nordeste do Rio Grande do Sul (ARGOLO *et al.*, 2008).



As espécies *Triatoma sordida* Stal, 1859 e *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835 estão distribuídas nos países como Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai. No Brasil, podemos encontrar essas espécies nos estados do Piauí, Pernambuco, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Goiânia, Distrito Federal, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Na Colômbia, Equador, Venezuela e Peru encontram-se as espécies de *R. prolixus*, *Triatoma maculata* Erichson, 1848 e *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811. *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 é distribuído nos estados brasileiros como Maranhão, Piauí, Pernambuco, Tocantins, Goiânia, Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, São Paulo, Paraná e no Distrito Federal (GURGEL-GONÇALVES; CUBA, 2007; ARGOLO *et al.*, 2008).

### **3.7 A espécie *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae)**

É uma das espécies que vem ocupando com freqüência, o nicho vago deixado pelo *T. infestans* no peri e intradomicílio. É encontrado em palmeiras como o babaçu (*Orbignya speciosa*) e macaubeira do gênero *Acrocomia*, onde se alimentam do sangue de roedores, morcegos, marsupiais e de aves que fazem ninho nessas palmeiras. Segundo Gurgel-Gonçalves e Cuba (2007), relatam a abundância de populações de *R. neglectus* em palmeiras do gênero *Acrocomia* no DF.

A colonização desta espécie em intradomicílios em São Paulo, Goiás e Minas Gerais, foi relatado por Rocha *et al.* (2001) onde foram encontradas pequenas colônias, com taxa média de infecção de 3,4%. Entre os anos de 2000 e 2004, Almeida *et al.* (2008) coletaram 415 exemplares desta espécie no estado de Mato Grosso do Sul, onde 0,6 % estavam naturalmente infectados com *T. cruzi*. Na ocasião, 2,4 % estavam no intradomicílio e apenas 0,6 % no peridomicílio.

A espécie *R. neglectus* (Figura 6) faz parte de um complexo conhecido como “complexo prolixus”, devido a sua semelhança com outras espécies do mesmo gênero, como *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 encontrado na região da Amazônia, *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927, na região da Venezuela e *R. prolixus*, encontrado na Colômbia. Esta espécie é diferenciada devido a sua distribuição no Cerrado do Brasil central. É encontrado geralmente no cacho das palmeiras, nas

brácteas que envolvem os cachos, nas axilas das folhas e muitas vezes nos ninhos das aves (DIOTAIUTI; DIAS, 1984).



Figura 6. Espécie *Rhodnius neglectus* (VARGAS, 2009).

### 3. 8 Controle vetorial

Segundo Argolo *et al.* (2008) e Coura (2008), no período de 1983 a 1987, como resultado da Campanha do Controle da Doença de Chagas, efetuada pela Fundação Nacional de Saúde (Funasa), o número de infestações domiciliares de insetos vetores e a incidência de casos, diminuiu significativamente naquele período. Porém, devido a contínua destruição dos habitats naturais desses artrópodes por ações antrópicas, como agricultura e desmatamento descontrolado, houve a redução da oferta alimentar, levando-os a procurarem outras fontes alimentares no domicílio humano, em animais como gatos, cachorro, aves, seres humanos, ratos, entre outros.

No ano de 2006, a Organização Pan-Americana da Saúde entregou ao Ministério da Saúde do Brasil, a Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas pelo *T. infestans*. Essa certificação representa apenas a eliminação da transmissão da doença por essa espécie de triatomíneo, ou seja, a interrupção momentânea. É necessária a manutenção das ações de controle e vigilância para que essa certificação se mantenha (FERREIRA; TABOSA, 2006).

A doença de Chagas ainda enfrenta muitos desafios, como o risco de reemergência da transmissão pelo *T. infestans*, a adaptação de triatomíneos secundários ao domicílio, a desativação dos programas de controle e de vigilância vetorial em muitos municípios (FERREIRA; TABOSA, 2006).

Para o controle do vetor a principal forma é o uso de compostos sintéticos. Esses produtos podem agir de três formas básicas: por contato que é resultante da absorção pelo tegumento do organismo alvo em borrifações residuais ou espaciais; por ingestão, quando a substância age e penetra no organismo alvo através da via oral; e a ação fumigante, quando o inseticida alcança o organismo alvo na forma de vapor, através de suas vias respiratórias (COELHO *et al.*, 2006).

Na década de 1940, o DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), o BHC (hexaclorociclohexano) e o Dieldrin, foram bastante utilizados para o controle de triatomíneos e tiveram um papel muito importante nesse controle. No início de 1960 o livro de Rachel Carson, "Silent Spring" revelou o impacto dos inseticidas e chamou a atenção para os efeitos dos hidrocarbonetos clorados (CARSON, 1969).

A alta estabilidade química e as grandes conseqüências toxicológicas e ecotoxicológicas dos inseticidas clorados ocasionou a sua substituição por compostos com propriedades mais favoráveis, como inseticidas organofosforados e carbamatos para o controle de vetores da doença de Chagas. Após as décadas de 50 e 60, os inseticidas começaram a ser desenvolvidos para serem biodegradáveis, maior seletividade e menor persistência. Essas são as características de um "inseticida ideal", o que ainda não foi possível, pois mesmo que este produto tenha essas características, o processo de seleção natural traz como conseqüência a resistência (VIEIRA *et al.*, 2000).

Apesar da eficiência dos inseticidas sintéticos como organofosforados, carbamatos e piretróides, eles apresentam uma série de problemas como toxicidade, desequilíbrios ecológicos devido à eliminação de inimigos naturais, surgimento de populações de insetos resistentes e contaminação ambiental como a presença de altos níveis de resíduos nas cadeias alimentares (OLIVEIRA, 1999; ZERBA, 1999; COSTA *et al.*, 2004).

Atualmente, o controle desses insetos tem sido feito com piretróides que, por sua vez, possuem um efeito residual de 3 a 9 meses no interior do ambiente doméstico. No entanto, algumas populações de *R. prolixus* e *T. infestans* têm

demonstrado significativa resistência a piretroídes e deltametrina em países como Brasil e Venezuela. Cepas de *T. infestans* oriundos de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, apresentaram intensa resistência a deltametrina (PICOLLO, 1994; ZERBA, 1999; SFARA *et al.*, 2006). Segundo Audino *et al.* (2004), em 1971 foi detectado o primeiro caso de resistência de *R. prolixus* ao dieldrin, na Venezuela. Vassena e Picollo (2003) também relatam a resistência de populações dessa espécie no mesmo país, a deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina,  $\beta$ -ciflutrina, cipermetrina e lambda-cialotrina.

Em função dos problemas gerados com aplicações sucessivas de compostos sintéticos os produtos naturais surgem como alternativas para o controle desses vetores, como forma de reduzir os impactos no meio ambiente, na saúde, bem como casos de resistência desses insetos. Essa necessidade estimula a busca por novos inseticidas e os metabólitos secundários das plantas são fontes inesgotáveis de compostos úteis, no entanto, são produzidos em quantidades insuficientes. Diante desse fato, muitos cientistas têm modificado os mecanismos celulares de produção dessas substâncias (PINTO *et al.*, 2002).

Ação inseticida ou insetistática já foram relatadas ao se utilizar extratos de plantas ou óleos essenciais. Repelência, inibição da oviposição, inibição do crescimento, inibição da alimentação, alterações morfogénicas, do sistema hormonal, no comportamento sexual, mortalidade na fase adulta ou imatura são alguns resultados desse controle (GALLO *et al.*, 2002).

### **3. 9 Metabólitos secundários**

O conjunto de reações químicas que ocorrem continuamente nos organismos vivos é chamado de metabolismo. As substâncias formadas, transformadas ou degradadas são chamadas de metabólitos. O metabolismo primário é responsável pelas funções básicas dos organismos vivos, como respiração, fotossíntese e crescimento, e os metabólitos secundários atuam em outros processos dos organismos, que não são considerados fundamentais para a manutenção do corpo, mas que são utilizados na defesa, reprodução, agregação, fuga, capacidade de adaptação às condições do meio em que vive (BRAZ FILHO, 2010).

O processo de produção de metabólitos secundários ocorre somente em alguns tecidos, em células especiais, em algum estágio de desenvolvimento e em determinadas condições ambientais. O local de biossíntese dessas substâncias pode estar restrito a algum órgão, e seu armazenamento pode ser em toda a planta ou em alguns órgãos. Os compostos mais hidrofílicos são armazenados nos vacúolos das células, enquanto os mais lipofílicos se ligam a membranas, ceras cuticulares e ligninas (SANTOS, 2000).

Os derivados botânicos, dependendo da espécie da planta e da sua utilização, podem ser administrados em sua forma pura, em extratos de soluções com etanol, hexano e aquosa (em estado de maceramento) e também em óleos essenciais. Vários aspectos devem ser levados em consideração ao utilizar-se os compostos botânicos, que vai desde a extração, conservação dos extratos ou óleo, dosagem, toxicidade até estabilidade em campo e custo. Deve-se então escolher o bioensaio mais apropriado para determinar a atividade inseticida, que depende dos hábitos do inseto com o qual se deseja fazer o bioensaio (CHAGAS, 2004).

Dentre as plantas, podemos encontrar muitas que fornecem metabólitos secundários com potencial de utilização como modelos para o desenvolvimento de produtos sintéticos modernos, como medicamentos, alimentos, agroquímicos e cosméticos, como fornecedores do princípio ativo, medicamentos semi-sintéticos ou sintéticos (PINTO *et al.*, 2002).

Entre as classes de metabólitos secundários utilizados como inseticidas naturais, que serviram de modelos para síntese de novos inseticidas, estão os alcalóides. São compostos frequentemente tóxicos para os vertebrados e invertebrados, agindo no sistema nervoso afetando os receptores da acetilcolina e a membrana dos canais de sódio. Como exemplo dessas substâncias pode-se citar a nicotina, a nor-nicotina, a anabasina e a fisostigmina. A nicotina e a nor-nicotina foram muito utilizadas para o controle de pragas no século XVI, mas sua produção anual vem decaindo, devido a alta toxicidade para mamíferos, odor desagradável e alto custo de produção. A fisostigmina foi utilizada como modelo para a síntese dos inseticidas carbamatos, e medicamentos para tratamento de doença de Alzheimer, já a nicotina foi modelo para síntese dos neo-nicotinóides (GALLO *et al.*, 2002; VIEGAS JÚNIOR, 2003; MOORE; LENGLET, 2004).

Dentre os grupos mais importantes economicamente, o piretro e a azadiractina são substâncias utilizadas como inseticidas naturais. O piretro, extraído das flores da planta *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae) é utilizado desde 1800. Esta planta é cultivada no Kênia, Tanzânia, Equador e Brasil. Os piretroídes são inseticidas análogos a piretrina, e são utilizados com grande sucesso, devido a sua baixa toxicidade para mamíferos. A síntese dessa substância é um exemplo do uso de produtos naturais como protótipo para um inseticida pouco tóxico ao homem (VIEIRA *et al.*, 2000).

A azadiractina é derivada da planta *Azadirachta indica* (Meliaceae), uma árvore originária da Índia, conhecida popularmente como Nim indiano. Nesta espécie foram encontrados nove triterpenos que têm demonstrado capacidade de bloquear o desenvolvimento de pragas agrícolas (MOORE; LENGLET, 2004; MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

O eucaliptol (ou cineol), o geraniol, o lineol e o piretro são compostos presentes nos óleos essenciais das plantas. As plantas que apresentam esses compostos possuem baixa toxicidade para mamíferos, e considerável toxicidade para insetos, agindo através de seus vapores, por serem substâncias voláteis. Muitos autores afirmam que esses compostos inibem a ação da acetilcolinesterase (*in vitro*) nos insetos e proporcionam atividade inibidora ou retardamento do crescimento, supressores de apetite, redução na capacidade reprodutiva e morte (VIEGAS JÚNIOR, 2003; MOORE; LENGLET, 2004).

### **3.10 Óleos essenciais**

Os óleos essenciais são substâncias complexas produzidas pelas plantas, através de seu metabolismo secundário. São definidas pela International Standard Organization (ISO) como substâncias voláteis, líquidas, lipofílicas, com odor, geralmente agradável e são obtidas através de partes das plantas, pelo processo de destilação, por arraste à vapor de água ou expressão do pericarpo de frutos (VITTI; BRITO, 2003).

Segundo Tripathi *et al.* (2009), de 17.500 plantas consideradas aromáticas, cerca de 3.000 possuem óleo essencial conhecido, sendo 300 comercializados pela indústria farmacêutica em cosméticos e perfumaria, além do seu alto potencial como

bioinseticida. As famílias Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Apiaceae, Poaceae, Cupressaceae e Piperaceae são as que apresentam maior número de espécies de plantas aromáticas.

Atualmente os óleos essenciais representam valores no mercado de cerca de \$700,00 milhões de dólares, com uma produção anual de 45.000 toneladas. Uma ampla demanda existe pela utilização dos óleos essenciais, principalmente para uso industrial e doméstico (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Alguns constituintes dos óleos essenciais são moderadamente tóxicos para seres humanos, sendo por essa razão, o conhecimento das doses necessárias para matar os insetos, extremamente importante para a segurança dos seres humanos e outros vertebrados. A maioria previamente aprovado pela *Food and Drug Administration* (FAO) são utilizados em produtos como perfumes, condimentos artificiais, em formulações de expectorantes, descongestionantes, analgésicos externos e anti-sépticos, para uso em alimentos orgânicos, aditivos alimentares, entre outros (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Muitos compostos podem ser encontrados nos óleos voláteis, com diferentes concentrações, como hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, fenóis, cetonas, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, lactonas, cumarinas, entre outros. Os óleos podem ser encontrados em estruturas secretoras da planta, como pêlos glandulares, canais oleíferos ou em flores, folhas, cascas de caule, madeira, raízes, rizomas, frutos e sementes (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Os terpenoídes são a grande maioria dos compostos encontrados nos óleos essenciais, e os monoterpenos constituem 90% desses compostos. Esses monoterpenos podem ser divididos em mirceno, linalol, geraniol, alfa-pineno, e inúmeros compostos caracterizados por diferentes tipos de esqueletos moleculares (SIMÕES; SPITZER, 2000).

As vantagens da utilização dos óleos essenciais no controle de pragas e a sua ação insetistática são relatadas. Uma delas é a sua baixa persistência em campo, pois esses compostos são voláteis e o efeito sobre organismos não-alvo é pequeno, além de apresentarem baixa toxicidade em mamíferos, Tem demonstrado eficácia contra pragas agrícolas de grãos armazenados, vetores de doenças, pragas domésticas, fungos, entre outros (ISMAN, 2006).

Em contrapartida, existem algumas desvantagens que ainda se constituem como entraves para comercialização desses produtos, como a sustentabilidade dos recursos botânicos, ou seja, a necessidade que essa planta seja produzida em grande quantidade; custos de padronização de extratos quimicamente complexos, pois a quantidade e a constituição dos óleos essenciais dependem de vários fatores, como clima, solo; a ação lenta dessas substâncias, onde os produtores devem ser conscientizados que essas substâncias demoram um tempo para agir e a baixa persistência residual, algumas substâncias degradam muito rápido em contato com os raios solares, necessitando de sinergistas (ISMAN, 2006).

### **3.11 Óleos essenciais com propriedades insetistáticas**

A natureza lipofílica dos óleos essenciais interfere nas vias metabólicas, fisiológicas, bioquímicas e comportamentais dos insetos. Esses compostos podem ser inalados, ingeridos ou absorvidos pelo tegumento do inseto e podem ser explorados como repelentes, larvicidas, fumigantes e com ação direta sobre o tegumento. A rapidez com que age indica um modo de ação neurotóxica, interferindo nos canais de octopamina, no transporte de íons e na liberação da acetilcolina nos insetos. A octopamina é um neurotransmissor que somente os invertebrados possuem, sendo que a falta desses receptores nos vertebrados contribui para maior seletividade dos óleos. Têm função neuro-hormonal e neuromodulador. Ao interferir nesse neurotransmissor ocorre a interrupção do funcionamento do sistema nervoso do inseto (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Os compostos dos óleos essenciais são eficazes contra diversas pragas, principalmente de grãos armazenados através da junção da fumigação, contato, repelência e toxicidade. Segundo a Segurança Política de Pesticidas dos Estados Unidos, (EPA), os novos pesticidas devem ser mais seguros, apresentar uma menor toxicidade para organismos não-alvo, possuir uma menor persistência no ambiente, materiais mais seguros, e baixa toxicidade aos seres humanos e animais, assim os inseticidas botânicos atendem a maioria desses critérios (ISMAN, 2006).

Alguns autores têm buscado novas alternativas para o controle de insetos vetores de doenças. Costa *et al.* (2005) obtiveram ótimos resultados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) e *Lippia sidoides* (Verbenaceae) em



larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), com 100% de mortalidade. Simas *et al.* (2004) demonstram que o óleo essencial de *Myroxylon balsamum* (Fabaceae) pode ser utilizado como uma ferramenta no controle de *A. aegypti*.

A repelência de *Schinus molle* (Anacardiaceae) foram relatadas para *T. infestans* por Ferrero *et al.* (2006). Laurent *et al.* (1997) descreveram plantas cujos óleos essenciais têm uma atividade em ninfas de *T. infestans*, como: *Coriandrum sativum* (Apiaceae), *Chenopodium ambrosioides* (Amaranthaceae) e *Menta arvensis* (Lamiaceae).

Estudos têm relatado a ação do óleo essencial de espécies do gênero arbóreo *Eucalyptus*, onde o citronelal é o principal componente desses óleos. Chagas *et al.* (2002) descrevem que o óleo de *Corymbia citriodora* (Myrtaceae) e *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) mataram 100% das larvas de carrapato da espécie *Boophilus (Ripicephalus) micropulus* (Acarina: Ixodidae) em uma concentração média de 17,5% e 15%, respectivamente. Pinto Júnior *et al.* (2010) concluíram que o óleo de *Eucalyptus viminalis* (Myrtaceae) proporcionou ação contra a praga de aviários *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae).

### 3.12 O Gênero *Eucalyptus*

O gênero *Eucalyptus* encontra-se na família Myrtaceae com cerca de 140 gêneros e 3.000 espécies, divididas em duas subfamílias, Myrtoideae e Leptospermoideae. Como característica possui a presença de cavidades secretoras de substâncias oleosas. O gênero é exótico, oriundo da Austrália e está distribuída na América Tropical e Austrália. Foi introduzido no Brasil no ano de 1868 com excelente adaptação a diferentes condições edafológicas. No Brasil as principais espécies utilizadas para a silvicultura incluem o *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus camadulensis*, *Eucalyptus salignae* e *Eucalyptus urophylla* (SOUZAb, 2008).

As florestas plantadas de *Eucalyptus* produzem uma gama de produtos que podem ser classificados como Produtos Florestais Madeiros (PFM) e Produtos Florestais Não-Madeiros (PFNM) (MATO GROSSO DO SUL, 2009). No quesito PFM, podem-se encontrar produtos como lenha, toras, compensados, celulose,

papel, entre outros. Já nos PFM os produtos comercializados são borracha, ceras, fibras, essências, armazenamento de carbono, óleos essenciais, entre outros.

O Brasil possui uma área florestal significativa, seja de nativa ou plantada. Em 2009 a área total de florestas plantadas de eucalipto e pinus no Brasil atingiu 6.310.450 hectares (ABRAF, 2010). No estado de Mato Grosso do Sul a explosão do setor florestal nos últimos anos atraiu quase 1,3 mil empresas nos setores primário e secundário, nas áreas de produção de florestas, mudas, serrarias, móveis, carvão, siderurgia, papel e celulose entre outras, conforme dados divulgados no Plano Estadual de Florestas Plantadas de Mato Grosso do Sul (MATO GROSSO DO SUL, 2009).

A espécie *E. urograndis* é um híbrido de *E. grandis* com *E. urophylla* que representam as espécies florestais mais utilizadas no plantio extensivo. Esse cruzamento reúne as características mais produtivas do *E. grandis*, como crescimento e qualidade da madeira e do *E. urophylla*, como resistência a doenças e boa adaptação. Espécies de *E. urograndis* podem atingir alturas superiores a 70 metros, possui boa adaptação aos diferentes sítios florestais e é mais produtivo em comparação com outras espécies de *Eucalyptus*, segundo Montanari *et al.* (2007).

### 3.13 Óleo Essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae)

A secreção dos óleos essenciais é liberada por glândulas endógenas contidas nas cavidades secretoras encontradas nas folhas da planta. Os óleos essenciais presentes nas espécies de *Eucalyptus* são ricos em compostos como hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos, compostos monoterpênicos, como o cineol para espécies com uso medicinal (inalantes, higiene bucal), feladreno ou acetato de piperitona para uso industrial (desinfetantes e desodorizantes) e citronelal, citral e acetato de geranila para uso em perfumaria (perfumes, sabões) (VITTI; BRITO, 2003).

O óleo essencial de *E. urograndis* possui aspecto líquido, incolor ou amarelado, sabor picante e cheiro forte. Araújo *et al.* (2010) isolaram compostos desse óleo, como, o 1,8-cineol, conhecido com eucaliptol, piperitona, aldeídos voláteis, feladreno, timol, *orto*-cimeno,  $\alpha$ -terpineol, germacreno- $\gamma$ -4-ol e 1,10-di-*epi*-cubenol. Estes autores realizaram testes de toxicidade deste óleo em ambientes

aquáticos, utilizando modelos biológicos como *Daphnia laevis* e *Daphnia similis* (Anomopoda: Daphniidae) (Cládoceros) como bioindicadores. Em todos os testes realizados foram detectados efeitos de toxicidade, onde o de maior intensidade foi provocado pelo óleo obtido de folhas que foram incubadas por um maior tempo em um ambiente aquático (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Duarte *et al.* (2010) também realizaram testes para avaliar a toxicidade da espécie *E. urograndis* contida na serapilheira que é carregada para ambientes aquáticos. Estes autores observaram que todas as amostras avaliadas apresentaram efeitos tóxicos sobre os organismos modelos submetidos aos testes (*D. similis* e *D. laevis*).

Baseando-se no fato de que as espécies do gênero *Eucalyptus* apresentam elevadas concentrações de metabólitos secundários, como compostos que apresentam atividades fungicida, inseticida, antimicrobiana, atividades farmacológicas, herbicida, entre outros, há a necessidade da pesquisa sobre os compostos de *E. urograndis*. Essa espécie é uma importante fonte de matéria prima desses compostos secundários, com fácil colheita ou corte da parte com propriedade inseticida (folhas) e possuir cultivo e propagação viável, além de ser uma planta perene, que possui apelo comercial, sendo todas as suas partes aproveitadas, como os Produtos Florestais Madeireiros e Não-Madeireiros, extração da madeira, silvicultura, comercialização de celulose, papel, ceras, entre outros,

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF**, 2010, ano base 2009/ ABRAF, 2010.

ALMEIDA, P. S.; CERETTI JUNIOR, W.; OBARA, M. T.; SANTOS, H. R.; BARATA, J. M. S.; FACCENDA, O. Levantamento da fauna de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) em ambiente domiciliar e infecção natural por Trypanosomatidae no Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p.374-380, 2008.

ANDRADE, Z. A. A. Patologia da doença de Chagas. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=26>>. Acesso em 20 de fev. de 2011.

ARAÚJO, A. J. G.; SABROZA, P. C.; SILVA, L. F. R. F. Paleoepidemiologia da doença de Chagas. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=133>>. Acesso em 25 de fev. de 2011.

ARAÚJO, F. O. L.; RIETZLER, A. C.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; CARAZZA, F.; VIEIRA FILHO, S. A. Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 33, n. 7, p.1510-1513, 2010.

ARGOLO, A. M; FÉLIX, M; PACHECO, R. Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio, 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/media/Versao%20em%20Portugues.pdf>>. Acesso em 25 de fev. de 2011.

AUDINO, P. G.; VASSENA, C.; BARRIOS, S.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p.335-339, 2004.

AZAMBUJA, P.; GARCIA, E. S. Hospedeiro invertebrado. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=11>>. Acesso em 20 de fev. de 2011.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da Fitoquímica para o Desenvolvimento de um País Emergente. **Química Nova**, vol. 33, n. 1, p.229-239, 2010.

CARVALHO, T. U. Cultura de Células. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=11>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2011.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. Ed. Melhoramentos, São Paulo, 1969.

CHAGAS, A.C.S.; PASSOS, W.M.; PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; FORTES, I.C.P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, suplemento 1, p.156-160, 2004.

COELHO, A. A. M; PAULA, J. E. de; ESPINDOLA, L. S. Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carcavalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p.133-138, 2006.

COSTA, E. L. N; SILVA, R. F. P; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 2, n.2, 2004.

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**, v. 15, n. 4, p.304-309, 2005.

COURA, J. R. **Síntese das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

COURA, J. R.; DIAS, J. C. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease - 100 years after its discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, suplemento 1, p.31-40, 2009.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. A doença de Chagas como problema do continente americano. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: < <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=134>>. Acesso em 20 de fev. de 2011.

DIOTAIUTI, L. Ecologia do vetor da doença de Chagas. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: < <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=83>>. Acesso em 10 de janeiro de 2011.

DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P. Ocorrência e biologia de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em macaubeiras da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n.3, p.293-301, 1984.

DUARTE, L. P.; FIGUEIREDO, R. C.; SOARES, D. B. S.; NOGUEIRA, M. M. ARAÚJO, F. O. L.; RIETZLER, A. C.; SILVÉRIO, F. O.; VIEIRA FILHO, S. A. Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico de extratos de folhas de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Científica do Departamento de Química e Exatas**, v. 1, n. 1, 2010.

FERREIRA, I. L. M. S.; TABOSA, T. P. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. v. 39, n. 5, p.507-509, 2006.

FERRERO, A. A.; WERDIN GONZALES, J. O.; SÁNCHEZ CHOPA; C. Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*. **Fitoterapia**. v. 77, n. 5, p.381–383, 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. R. P.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. 5. ed. Piracicaba: FEALQ, p.920, 2002.

GALVÃO, C. Sistemática e taxonomia clássica. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=21>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2011.

GONÇALVES, T. C. M.; COSTA, J. Morfologia Externa. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=22>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2011.

MATO GROSSO DO SUL. **Plano Estadual para o desenvolvimento sustentável de Florestas Plantadas. Resumo Executivo**. Campo Grande, MS. 2009.

GURGEL-GONÇALVES, R. ; CUBA, C. A. C. Estrutura de populações de *Rhodnius neglectus* Lent e *Psammolestes tertius* Lent e Jurberg (Hemiptera: Reduviidae) em ninhos de pássaros (Furnariidae) presentes na palmeira *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 1, p.157-163, 2007.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review Entomology**, v. 51 n.1, p. 45–66, 2006.

LAURENT, D.; VILASECA, L. A.; CHANTRAINE, J. M.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R. Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 1, p.285–290, 1997.

LOROSA, E. S.; ANDRADE, R. E.; PUJOL-LUZ, J. R.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R. U. Determinação das fontes alimentares e da infecção natural do *Triatoma jurbergi* (Carcavallo, Galvão & Lent, 1998) *Triatoma vanda* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2001 capturados no estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Zociências**, v. 5 n. 2, p.253-265, 2003.

MONTANARI, R.; MARQUES JÚNIOR, J.; CAMPOS, M. C. C.; CAVALCANTE, I. H. L. Níveis de resíduos de metalurgia e substratos na formação de mudas de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, n. 1, 2007.

MOORE, S. J.; LENGLET, A. D. An overview of plants used as insect repellents. In: WILLCOX, M.; BODEKER, G.; RASOANAIVO, P. **Traditional Medicinal Plants and Malaria**. 2004.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.24, n. 1, p.139-48, 2005.

OLIVEIRA, A. M. O controle de triatomíneos vetores da Doença de Chagas. In: MARICONI, F. A. M. **Insetos e outros invasores de residências**. v. 6, Piracicaba: FEALQ, p 303-378. 1999.

PICOLLO, M. I. Métodos de detección y monitoreo de resistencia en Triatominos. **Acta Toxicologica Argentina**, v. 2, n. 1, p.56-8, 1994.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. C.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, suplemento 1, p.45-61, 2002.

PINTO JÚNIOR, A. R.; CARVALHO, R. I. N.; NETTO, S.P.; WEBER, S.H.; SOUZA, E.; FURIATTI, R. S. Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p.637-643, 2010.

REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

ROCHA, D. S.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R. F.; CUNHA, V.; GALVÃO, C. Influência da temperatura e umidade na biologia de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 34, n. 4, p.357-363, 2001.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabolitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. ed.2, Ed. UFRGS e UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2000.

SANTOS-MALLETE, J. R.; GOMES, S. A. O. Morfologia Interna. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=22>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2011.

SCHENKMAN, S. Interação do parasito com seus hospedeiros. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=15>>. Acesso em 24 de fev. de 2011.

SILVA, F. S. A importância hematofágica e parasitológica da saliva dos insetos hematófagos. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 3, n. 3, p.3, 2009.

SILVEIRA, A. C. Situação da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. **Cadernos de Saúde Pública**, v.16, n. 2, p.35-42, 2000.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; LAGE, C. L. S. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p.46-49, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. ed.2, Ed. UFRGS e UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2000, cap.18.

SFARA, V.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1001, n. 1, p.89-84, 2006.

SOUZA, W. Métodos morfológicos. Programa Integrado de Doença de Chagas da Fiocruz. 2008a. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=12>>. Acesso em 25 de fevereiro de 2011.

SOUZA, R. R. S. **Caracterização anatômica quantitativa e composição de óleos essenciais em três estágios foliares de clones de eucalipto e sua relação com a ferrugem**. Dissertação-Mestrado em Agronomia. Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP. 2008b.

TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P.R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal Pharmacognosy and Phytotherapy** .v. 1, n. 5, p.052-063, 2009.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. **Revista Toxicología en línea**. 2003. Disponível em: <<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=19>>. Acesso em 01 de março de 2011.

VARGAS, E. B. IREKANI - Instituto de Biología - UNAM - Triatomíneos de la Colección Nacional de Insectos. 2009. Disponível em: <<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/5537?proyecto=irekani>>. Acesso em 24 de fev. de 2011.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J.B.; ANDREI, C. C. Plantas Inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. ed.2, Ed. UFRGS e UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2000.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p.390-400, 2003.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de Eucalipto. **Documentos florestais**, nº 17. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2003.



WHO. World Health Organization. Programmes and Projects. **Fact sheets. N° 340/ JUNE 2010**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Consultado em 24 de fevereiro de 2011.

ZERBA, E.N. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. **Medicina**. v. 59, n. 2, p. 41-46. 1999.

## Capítulo II

**Avaliação insetistática do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ovos e ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae)**

Suellem Petilim Gomes<sup>1</sup>

Laboratório de Pesquisa em Entomologia, Universidade Anhanguera/Uniderp, Av. Alexandre Herculano, 1400, Jardim Veraneio, 79037-280, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

<sup>1</sup>Autor para correspondência: [suellemg@yahoo.com.br](mailto:suellemg@yahoo.com.br).

Avaliação Insetistática do Óleo Essencial de *Eucalyptus urograndis* em Ovos e Ninfas de 3° e 4° Estádio de Desenvolvimento de *Rhodnius neglectus* (Lent) (Hemiptera: Reduviidae)

Silvio Favero

Laboratório de Pesquisa em Entomologia, Universidade Anhanguera/Uniderp, Av. Alexandre Herculano, 1400, Jardim Veraneio, 79037-280, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

**RESUMO:** A resistência de triatomíneos para piretroídes é relatada em vários países da América Latina, inclusive no Brasil. Isso indica a necessidade de desenvolvimento de novas substâncias com ação inseticida em vetores da doença de Chagas. Neste trabalho foi avaliada a ação inseticida do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) em ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus* (Lent) (Hemiptera: Reduviidae), através de bioensaios de aplicação tópica, fumigação, superfície de contato, repelência e teste ovicida. A ação inseticida foi detectada por aplicação tópica, ( $DL_{50}=0,1731$   $\mu\text{L}/\text{inseto}$  e  $DL_{99}=0,2948$   $\mu\text{L}/\text{inseto}$  em 24 horas), fumigação ( $CL_{50}= 0,021$  mL/mL de ar e  $CL_{99}=0,1525$  mL/mL de ar, em 24 horas) e superfície de contato com  $CL_{50}=0,7073$   $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  e  $CL_{99}= 4,59$   $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  em 24 horas, onde a mortalidade no período de 48 e 72 horas foi muito alta, não sendo possível o ajuste da curva. No bioensaio ovicida o óleo essencial não apresentou ação nos ovos nas concentrações testadas. Já para o teste de repelência, o óleo apresentou 80% de efeito repelente às ninfas, contudo, após 24 horas de exposição não foi detectado este efeito. O óleo essencial de *E. urograndis* apresenta um alto potencial como inseticida e repelente para ninfas de *R. neglectus*, podendo servir como modelo molecular para novas substâncias ou ser utilizado como alternativas no controle desses insetos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle vetorial, Inseticidas botânicos, Triatomíneos, doença de Chagas.

Insectistatic evaluation of essential oil of *Eucalyptus urograndis* eggs and nymphs of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> instar of *Rhodnius neglectus* (Lent) (Hemiptera: Reduviidae)

**ABSTRACT:** The pyrethroids resistance by insects has been reported in several Latin American countries, including Brazil. This indicates the need to develop new insectistatic substances that act on Chagas disease vectors. In this paper was evaluated the insectistatic action of *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) essential oil on nymphs of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> stage development of *Rhodnius neglectus* Lent (Hemiptera: Reduviidae) through bioassays of topical application, spraying, contact surface, and repellency ovicidal test. The insecticide action was detected by topical application ( $LD_{50} = 0,1731 \mu\text{L}/\text{insect}$  and  $LD_{99} = 0,2948 \mu\text{L}/\text{insect}$  for 24 h) fumigation ( $LC_{50} = 0,021 \text{ mL}/\text{mL air}$  and  $LC_{99} = 0,1525 \text{ mL}/\text{mL air}$  for 24 hours) and contact surface  $LC_{50} = 0,7073 \mu\text{L}/\text{cm}^2$  and  $LC_{99} = 4,59 \mu\text{L}/\text{cm}^2$  for 24 hours, where mortality in 48 and 72 hours was very high and this didn't allowed the curve adjustment. In the ovicidal bioassay, the essential oil showed no action on the eggs at the concentrations tested. However to the repellent test, the repellent oil showed effect to nymphs, however, after 24 hours of exposure, there was not detected repellent effect. The *E. urograndis* essential oil has a high insecticide and repellent potential for nymphs of *R. neglectus*, serving as a molecular model for new substances or be used as alternatives in controlling these insects.

**KEYWORDS:** Vector control, botanical pesticides, Triatominae, Chagas disease.

## Introdução

A espécie *Rhodnius neglectus* (Lent) é encontrada no Cerrado brasileiro, sendo um importante vetor secundário da doença de Chagas. Essa doença já foi totalmente confinada a região das Américas, mas atualmente, estima-se que existam 10 milhões de pessoas infectadas com o *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 em todo o mundo. Não existindo vacina e nem compostos com ação curativa, a Organização Mundial da Saúde preconiza um programa de manejo integrado de vetores juntamente com uma gestão ambiental peridomiciliar e utilização de inseticidas, como o método mais útil para prevenir a doença (WHO 2010).

O controle desses triatomíneos é feito com inseticidas sintéticos, entretanto a resistência desses insetos a piretróides já foi relatada no Brasil, na Venezuela e na região norte da Argentina. O foco na região norte da Argentina é recente (Picollo 1994, Zerba 1999, Vassena & Picollo 2003, Audino *et al* 2004, Sfara *et al* 2006; WHO 2009).

Atualmente, o desafio é a busca por novas moléculas que possam servir de modelo para inseticidas sintéticos, como foram no passado, com a piretrina, nicotina e a rotenona. As plantas são fontes promissoras dessas moléculas devido ao seu uso no combate a herbivoria. Estas moléculas apresentam baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação no ambiente e desenvolvimento lento de resistência. São capazes de repelir, inibir a muda dos triatomíneos além de possuírem ação triatomicida (Laurent *et al* 1997, Chagas *et al* 2002, Coelho *et al* 2006).

Em trabalho realizado por Ferrero *et al* (2006), os autores observaram que extratos hexânicos dos frutos de *Schinus molle* (Anacardiaceae) tiveram efeito repelente para *Triatoma infestans* (Klug). Extratos de plantas da família Asteraceae também tiveram efeito sobre *T. infestans*, segundo Rojas de Arias *et al* (1995), onde o extrato hexânico de flores de *Achyrocline satureoides* (Asteraceae) apresentou 45% de mortalidade sobre os triatomíneos tratados topicamente. Valladares *et al* (1999), observaram que o extrato do fruto verde de *Melia azedarach* (Meliaceae) foram repelentes para as ninfas de primeiro e quarto estágio de desenvolvimento de *T. infestans*.

Compostos encontrados no óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*, como o 1,8-cineol e o timol apresentam propriedades farmacológicas, anti-helmíntica, anti-inflamatória, atividades herbicida, inseticida, bactericida, fungicida e larvicida,. O composto ecotoxicológico dessas moléculas tem sido estudado por diversos autores (Araújo *et al* 2010, Pinto Júnior *et al* 2010, Duarte *et al* 2010).

Diante da necessidade da descoberta de novas moléculas para o controle de triatomíneos, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida sobre ovos e ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *R. neglectus* (Hemiptera: Reduviidae) através de aplicação tópica, fumigação, superfície de contato e repelência ao óleo essencial de *E. urograndis* (Myrtaceae) em condições de laboratório.

## Material e Métodos

**Plantas:** Em 2010, as folhas de *E. urograndis* foram coletadas de árvores com 2 anos de idade, na Embrapa Gado de Corte (20° 27' S e 54° 37' W), município de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul.

**Preparação dos Extratos:** As folhas foram levadas ao laboratório de Pesquisa em Entomologia da Universidade Anhanguera-Uniderp (Campo Grande, MS) para extração de óleo essencial. O material foi triturado em liquidificador na proporção de 200 g para 1 L de água, conforme método descrito por Conte *et al* (2001). Para extração de óleo essencial foi utilizado aparelho tipo Clevenger, por duas horas, que se baseia em hidrodestilação de substâncias voláteis. O óleo foi utilizado na sua forma pura e em doses diluídas em acetona. Todos os bioensaios foram mantidos em sala climatizada com temperatura constante  $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $65 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 14 horas (Rocha *et al* 2001).

**Análise Estatística:** Os dados foram tabulados e calculadas as Doses Letais 50 e 99 (DL<sub>50</sub> e DL<sub>99</sub>), Concentrações Letais 50 e 99 (CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub>) através da análise estatística de Probit (Finney 1971) e para o bioensaio de repelência, teste Binomial, através do software Biostat 5 (Ayres *et al* 2007).

**Insetos:** Ninfas no 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *R. neglectus* foram alimentadas em galinha (*Gallus gallus*), 72 horas antes dos bioensaios e mantidas em sala climatizada, com temperatura constante  $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $65 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 14 horas (Rocha *et al* 2001).

**Exposição por aplicação tópica:** O ensaio de toxicidade aguda tópica foi realizado utilizando-se doses de 0,100; 0,125; 0,150; 0,190 e 0,240  $\mu\text{L}/\text{inseto}$  diluídos em acetona, em quatro repetições cada concentração, com 10 ninfas do 3° e 4° estágio de desenvolvimento, totalizando 240 insetos com o controle (acetona). As ninfas foram acondicionadas em placas de Petri de 90 mm de diâmetro, tendo em seu fundo papel filtro para absorção da umidade das

fezes. Foi aplicado 1  $\mu$ L de cada concentração na região dorsal de cada indivíduo. Após 24 e 48 horas foi avaliada a mortalidade por dose e repetição.

Pressão de vapor (fumigação): Para o teste de fumigação foram utilizados potes de plástico (PET) de 2 L com tampa vedante, nos quais foram fixados pequenos pedaços de algodão na parte superior, onde receberam 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,06 mL de óleo essencial puro. No tratamento controle, não foi utilizada nenhuma substância. Para cada dose e tratamento controle foram realizadas triplicatas, onde foram liberadas dez ninfas do 3° e 4° estágio de desenvolvimento, totalizando 210 ninfas. Após 24 e 48 horas, foi avaliado o número de insetos mortos.

Superfície de Contato: Neste ensaio, as concentrações foram calculadas baseando-se na área em  $\text{cm}^2$  do papel filtro de 90 mm de diâmetro. Quatro concentrações foram preparadas (0,47; 1,1; 2,2 e 4,4  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) diluídas em acetona, e para cada concentração, quatro repetições e cinco ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento para cada repetição foram utilizadas. Para o controle, foi utilizada acetona, totalizando 100 indivíduos. Em cada papel filtro, aplicou-se 1 mL de cada concentração e os mesmos foram deixados para evaporação do solvente, durante 10 minutos. Após esse período, as ninfas foram liberadas nas placas. A avaliação foi realizada após 24, 48 e 72 horas.

Repelência: Para o bioensaio de repelência foram utilizadas placas de Petri de 150 mm de diâmetro, onde o papel filtro foi dividido, e metade foi tratada com 2 mL da solução de 0,25  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  (correspondente à  $\text{CL}_{10}$  do teste de superfície de contato) e a outra metade foi tratada com 2 mL de acetona. Foram montadas dez repetições e após 10 minutos de evaporação, foi liberada uma ninfa de 3° e 4° estágio de desenvolvimento em cada placa. A avaliação da repelência foi realizada 60 minutos e 24 horas após a liberação das ninfas.

Teste Ovicida: Foi aplicado óleo essencial puro nas concentrações de 0,5; 0,7; 0,9 e 1,0  $\mu\text{L}$  diretamente em cada ovo, totalizando 20 ovos para cada concentração. Para o controle, nenhuma substância foi utilizada. Os ovos foram acondicionados em placas de Petri, vedados, onde foi observada a eclosão diariamente, durante 30 dias.

## **Resultados e Discussão**

No bioensaio de aplicação tópica, observou-se alta mortalidade das ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento em 24 e 48 horas e os valores de  $\text{DL}_{50}$  e  $\text{DL}_{99}$  estão demonstrados na Tabela 1. O efeito tóxico agudo tópico dos óleos essenciais está relacionado com a ação



sobre a octopamina em insetos, análogo à adrenalina em mamíferos. A ação sobre a octopamina promove alterações no sistema nervoso dos insetos levando-os a morte entre outras conseqüências (Isman 2006).

Tabela 1 Valores de DL<sub>50</sub> e DL<sub>99</sub> de aplicação tópica do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ninfas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

<b>Tempo</b>	<b>DL<sub>50</sub> (µL/inseto)</b> <b>(IC 95%)</b>	<b>DL<sub>99</sub> (µL/inseto)</b> <b>(IC 95%)</b>	<b>Declividade</b>	<b>GL</b>	<b>x<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>N</b>
<b>24 horas</b>	0,1731 (0,1641-0,1832)	0,2948 (0,2628-0,3515)	4,36	3	2,56	0,464	200
<b>48 horas</b>	0,1575 (0,1472-0,1692)	0,3438 (0,2894-0,4519)	2,98	3	11,43	0,010	200

DL: dose letal 50 ou 99; IC 95%: Intervalo de Confiança a 95%; GL: Grau de liberdade;  $\chi^2$ : Qui-quadrado; P: Probabilidade; N: número de insetos.

Sukotanson *et al* (2004) avaliaram o efeito do eucaliptol, em insetos vetores de doenças, como a mosca doméstica (*Musca domestica*) e mosca varejeira (*Chrysomya megacephala*), em aplicação tópica, onde os machos adultos se mostraram mais suscetíveis que as fêmeas adultas em ambas as espécies. As larvas também foram tratadas com eucaliptol, e os adultos de ambas as espécies tiveram sua expectativa de vida reduzida após o tratamento. Sandi e Blanco (2007), também utilizaram o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) em aplicações tópicas e concluíram que este óleo possui atividade inseticida sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) causando uma mortalidade de 65% da população, em 24 horas, utilizando óleo puro. Mello *et al* (2007) avaliaram a ação insetistática de *Pilocarpus spicatus* (Rutaceae) em ninfas de *R. prolixus* e como resultados obtiveram altos níveis de toxicidade e paralisias associadas à discreta inibição da muda que foram induzidas pela aplicação tópica de 0,5 µL ou 1,0 µL do óleo essencial por inseto

O óleo essencial puro de *E. urograndis* também apresentou atividade inseticida para as ninfas através da fumigação. Os valores de concentração letal 50 (Tabela 2) no período de 24 horas foram de CL<sub>50</sub> = 0,021 mL/mL de ar. Para o período de 48 horas, houve um aumento gradativo dessa mortalidade, de acordo com as doses, com CL<sub>50</sub> = 0,012 mL/mL de ar.

Tabela 2 Valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> de fumigação do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

Tempo	CL <sub>50</sub> (mL/mL) (IC 95%)	CL <sub>99</sub> (mL/mL) (IC 95%)	Declividade	GL	$\chi^2$	P	N
<b>24 horas</b>	0,021 (0,016-0,026)	0,1525 (0,0815-0,5605)	1,14	3	14,54	0,002	150
<b>48 horas</b>	0,012 (0,010-0,014)	0,0415 (0,030- 0,075)	1,87	2	16,20	0,000	150

CL: Concentração letal 50 ou 99 (mL/mL de ar); IC 95%: Intervalo de Confiança a 95%; GL: Grau de liberdade;  $\chi^2$ : Qui-quadrado; P: Probabilidade; N: número de insetos.

Alguns autores têm relatado a ação fumigante de óleos essenciais em insetos de várias ordens. Fazolin *et al* (2007) relataram a ação inseticida por fumigação do óleo de *Tanaecium nocturnum*, uma Bignoniaceae utilizada pelos índios da região do Pará (Brasil). A ação deste óleo mostrou-se mais promissora nas concentrações de 4,0 e 5,0% (m/v) onde a mortalidade foi próxima a 100% em adultos de *S. zeamais*. Coitinho *et al* (2011) relataram também a toxicidade do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (Piperaceae) e *Piper aduncum* (Piperaceae) por fumigação em *S. zeamais*.

Os resultados obtidos no presente trabalho podem estar relacionados com a presença de determinados compostos no óleo essencial de espécies de *Eucalyptus*, que já demonstraram ação sobre diversas espécies de insetos quando utilizados em fumigação. Tripathi *et al* (2001), concluíram que o 1,8-cineol, da planta *Artemisia annual* (Asteraceae), que é o principal composto também encontrado em *Eucalyptus* mostrou toxicidade como fumigante em *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Lee *et al* (2004) avaliaram o efeito fumigante do óleo essencial de *Eucalyptus nicholii* (Myrtaceae), *Eucalyptus codonocarpa* (Myrtaceae) e *Eucalyptus blakelyi* (Myrtaceae), em *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), *T. castaneum* e *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrycidae), onde esses autores concluíram que estes óleos, ricos em 1,8-cineol, possuem ação inseticida nesses insetos, pragas de grãos armazenados.

Brito *et al* (2006) também relataram que o óleo das espécies de eucalipto, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Eucalyptus staigeriana* (Myrtaceae) e *Corymbia citriodora*

(Myrtaceae) nos bioensaios de fumigação em *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), apresentaram ação inseticida. O óleo mais eficiente foi o de *C. citriodora*, que causou 100% da mortalidade e apresentou as menores doses letais e os menores tempos letais.

Apesar da alta mortalidade apresentada pelos óleos essenciais por fumigação pouco se sabe sobre o modo de ação por este tipo de aplicação (Isman 2006). A ação inseticida fumigante de *E. urograndis* em *R. neglectus* é de extrema importância, devido ao comportamento desses insetos. Como esses óleos são voláteis, na forma de vapor podem penetrar por buracos e fendas em paredes, madeiras, galinheiros, tijolos, ou seja, lugares que são o habitat de diversos triatomíneos, podendo agir assim pelas vias respiratórias do inseto e provocando a sua morte.

As concentrações letais da superfície de contato impregnada com soluções contendo o óleo essencial de *E. urograndis* estão demonstradas na tabela 3. A ação das diferentes concentrações aplicadas resultou em maiores concentrações de óleo com maior mortalidade. No período de 48 horas a mortalidade foi alta para um ajuste confiável da curva, indicando que baixas concentrações provocaram a mortalidade quase total dos insetos já com 72 horas (Tabelas 4 e 5). Estes resultados mostram uma dependência da mortalidade com o tempo de exposição ao óleo essencial sendo a concentração letal inversamente proporcional ao tempo de exposição.

Tabela 3 Valores de CL<sub>50</sub> de Superfície de Contato do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ninfas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

<b>Tempo</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µL/cm<sup>2</sup>) (IC 95%)</b>	<b>CL<sub>99</sub> (µL/cm<sup>2</sup>) (IC 95%)</b>	<b>Declividade</b>	<b>GL</b>	<b>x<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>N</b>
<b>24 horas</b>	0,7073 0,4558-0,9588	4,59 2,84- 12,74	1,25	2	21,27	0,000	80
<b>48 horas</b>	0,0059	111,6	0,23	2	1,94	0,378	80
<b>72 horas</b>	-	-	5,92	2	-	1,00	80
	-	-					

CL: concentração letal 50 ou 99 (µL/cm<sup>2</sup>); IC 95%: Intervalo de Confiança a 95%; GL: Grau de liberdade; x<sup>2</sup>: Qui-quadrado; P: Probabilidade. N: número de insetos.

Tabela 4 Mortalidade em porcentagem, em 48 horas por Superfície de Contato do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

$\mu\text{L}/\text{cm}^2$	Mortos	N	%
<b>0,47</b>	16	20	80
<b>1,1</b>	19	20	95
<b>2,2</b>	19	20	95
<b>4,4</b>	18	20	90

Tabela 5 Mortalidade em porcentagem, em 72 horas por Superfície de Contato do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

$\mu\text{L}/\text{cm}^2$	Mortos	N	%
<b>0,47</b>	17	20	85
<b>1,1</b>	20	20	100
<b>2,2</b>	20	20	100
<b>4,4</b>	20	20	100

A ação insetistática do óleo essencial de espécies do gênero *Eucalyptus* vêm sendo estudada também em superfícies impregnadas. Pinto Junior *et al* (2010) demonstraram a eficácia do óleo essencial de *Eucalyptus viminalis* (Myrtaceae) em *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Tanto larvas como adultos foram intoxicadas pelo óleo, através do bioensaio de contato, onde os autores sugerem que este óleo seja uma alternativa para o controle de pragas de avicultura.

Laurent *et al* (1997) observaram atividade larvicida dos óleos essenciais de *Coriandrum sativum* (Apiaceae), *Chenopodium ambrosioides* (Amaranthaceae), *Menta arvensis* (Lamiaceae), *Chrysanthemum parthenium* (Asteraceae), *Hedeoma mandoniana* (Lamiaceae) e *E. globulus*, em ensaios de papel impregnado, sobre ninfas de *T. infestans*. Estes autores sugerem que o teste de papel impregnado é mais sensível e exige um maior período de observação que o bioensaio de aplicação tópica, devido aos compostos voláteis dos óleos serem absorvidos pela respiração do inseto, além da ação pelo contato com o inseto.

O óleo essencial de *E. urograndis* apresentou efeito repelente às ninfas de 3° e 4° estágio (Tabela 6), com índice de repelência médio de 80% (teste Binomial  $p=0,05$ ), contudo

após 24 horas de exposição não foi detectado efeito repelente (teste Binomial,  $p=1,0$ ). Estes dados indicam uma diminuição do efeito repelente inversamente proporcional ao tempo, provavelmente pelo caráter de rápida volatilização do óleo em estudo.

Tabela 6 Índice de repelência de óleo de *Eucalyptus urograndis* para ninfas de 3° e 4° estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*.

<b>Tempo</b>	<b>Repelência</b>	<b>P (unilateral)</b>	<b>N</b>
<b>1 hora</b>	8	0,05*	10
<b>24 horas</b>	5	1,0 ns	10

\*Diferença significativa pelo teste binomial para proporção igual a 0,5. ns = não significativo  
N: Número de insetos.

Tawatsin *et al* (2001), avaliaram a repelência do óleo essencial de *Curcuma longa* (Zingiberaceae), *Citrus hystrix* (Rutaceae), *Cymbopogon winterianus* (Poaceae) e *Ocimum americanum* (Lamiaceae) em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), *Anopheles dirus* (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) e observaram que os óleos de *C. winterianus* e *O. americanum* repeliram as três espécies de mosquitos por até oito horas.

No teste ovicida (Tabela 7), o óleo essencial puro não mostrou ação inseticida sobre as ninfas eclodidas. Não houve diferença significativa entre as concentrações do óleo e o controle. Para Mariconi (1980), substâncias que possuem ação ovicida são aquelas que matam os ovos através do córion, interrompendo o desenvolvimento da ninfa. Existem algumas teorias que explicam a dificuldade das substâncias inseticidas agirem sobre os ovos dos insetos. Uma das hipóteses cita que muitos inseticidas possuem ação neurotóxica, e na fase de ovo, o sistema nervoso não está totalmente desenvolvido. Outra hipótese explica que a impermeabilidade do córion e camadas adjacentes, impedem a penetração dessas substâncias e a alta volatilidade dos óleos impede a sua ação sobre os ovos (Laurent *et al* 1997, Stamopoulos *et al* 2007).

Laurent *et al* (1997) também relataram a ação dos óleos essenciais de *Mentha arvensis* (Lamiaceae), *Minthostachys andina* (Lamiaceae), *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) e *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) em ovos de *T. infestans* e sugerem que os terpenos presentes nesses óleos podem ser utilizados como sinérgicos em controles de triatomíneos.

Tabela 7 Número de ovos eclodidos de *Rhodnius neglectus* aplicados topicamente por óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.

<b>Volume/ovo</b>	<b>Eclosão</b>	<b>Total</b>
<b>Controle</b>	18	20
<b>0,5 µL</b>	19	20
<b>0,7 µL</b>	17	20
<b>0,9 µL</b>	17	20
<b>1,0 µL</b>	18	20

Carvajal *et al* (2010) testaram extrato da planta *Solanum macranthum* (Solanaceae) em triatomíneos das espécies *Rhodnius colombiensis* (Hemiptera: Reduviidae), *Rhodnius pallenscens* (Hemiptera: Reduviidae) e *R. prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). Estes autores observaram que o extrato hidroalcolico desta planta proporcionou ação inseticida sobre estes insetos em menos de 12 horas.

Os efeitos e o tempo de ação dos compostos botânicos dependem da dosagem, a mortalidade é proporcional à dose. Desta forma, buscam-se efeitos intensos, mais duradouros e que causam redução das populações em longo prazo. Essas moléculas botânicas apresentam este potencial, podendo causar diversos efeitos sobre os insetos, como deformações, alterações no sistema hormonal e no desenvolvimento, repelência, inibição de oviposição e da alimentação, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases (Chagas 2004).

Diante do exposto, o óleo essencial de *E. urograndis* é uma importante fonte de matéria prima de compostos secundários, como o 1,8-cineol, descrito com atividade inseticida. Isso indica um grande potencial na utilização do óleo dessa espécie e o seu estudo pode gerar produtos baseados em protótipos naturais, e desse modo essas substâncias poderiam ser utilizadas como modelos moleculares para novos inseticidas ou recomendadas como sinergistas nos programas de controles de triatomíneos. Esta espécie florestal além de ser uma planta perene, possui adicionais lucrativos, fácil colheita ou corte da parte com propriedade inseticida (folhas) além de cultivo e propagação viável. Essas vantagens contribuem para que as atividades deste óleo possam ser continuamente estudadas e utilizadas, por produtores e indústrias.

### **Conclusão**

A ação inseticida foi detectada por aplicação tópica, fumigação e superfície de contato sobre as ninfas de 3º e 4º estágio de desenvolvimento de *Rhodnius neglectus*. No bioensaio ovicida o óleo essencial não apresentou ação nos ovos nas concentrações testadas. O óleo essencial de *E. urograndis* apresentou efeito repelente às ninfas de 3º e 4º estágio, contudo, após 24 horas de exposição não foi detectado efeito repelente.

### **Agradecimentos**

Ao Centro de Pesquisa do Pantanal e Fundação Manoel de Barros pelo apoio financeiro. À CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas a SPG e SF (PQ).

## Referências Bibliográficas

Abraf Anuário estatístico da ABRAF (2010) ano base 2009/ ABRAF.

Audino PG, Vassena C, Barrios S, Zerba E, Picollo MI (2004) Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz 99: 335-339.

Araújo FOL, Rietzler AC, Duarte LP, Silva GDF, Carazza F, Vieira Filho AS (2010) Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Mirtaceae). Quím Nova 33: 1510-1513.

Ayres M, Ayres Junior M, Ayres DL, Santos AAS (2007) Biostat 5.0 Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biomédicas.

Brito JP, Oliveira JEM, Bortoli CA (2006) Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). Revista de Biologia e Ciências da Terra 6: 96-103.

Carvajal JEH, Orjuela YF, Vallejo GA (2010) Evaluación de la actividad insecticida de *Solanum macranthum* (Dunal) sobre ninfas de los estadios IV y V de *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius colombiensis*. Revista Cubana de Farmacia 45: 71-78.

Chagas ACS, Passos WM, Prates HT, Leite RC, Furlong J, Fortes ICP (2002) Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. Braz. J. vet. Res. anim. Sci. 39: 247-253.

Chagas ACS (2004) Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 13: 156-160.

Coelho AAM, Paula JE, Espindola LS (2006) Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carcavalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemíptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. Neotrop Entomol 35:133-138.



Coitinho RLBC, Oliveira JV, Gondim MG CJ, Câmara CAG (2011) Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 35: 172-178.

Conte CO, Laura VA, Battistelli JZ, Cesconetto AO, Solon S, Favero S (2001) Rendimento de óleo essencial de alfavaca por arraste à vapor em Clevenger, em diferentes formas de processamento das folhas. Horticultura Brasileira 19.

Duarte LP, Figueiredo RC, Soares DBS, Nogueira MM, Araújo FOL, Rietzler AC, Silvério FO, Vieira Filho AS (2010) Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico de extratos de folhas de *Eucalyptus urograndis*. Revista Científica do Departamento de Química e Exatas 1: 19-26.

Fazolin M, Estrela JLV, Catani V, Alecio MR, Lima MS (2007) Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Acta Amazonica 37: 599 – 604.

Ferrero AA, Gonzales JOW, Sánchez CC (2006) Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*. Fitoterapia 77: 381–383.

Finney DJ (1971) Probit Analysis. London, Cambridge Press, p.338.

Isman MB (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45–66.

Laurent D, Vilaseca LA, Chantraine JM, Ballivian C, Saavedra G, Ibanez R (1997) Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. Phytotherapy Research 11: 285–290.

Lee B, Annis PC, Tumaalii F, Choj W (2004) Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. Journal of Stored Products Research 40: 553-564.

Mariconi FAM (1980) Inseticidas e seu emprego no combate as pragas. São Paulo, Livraria Nobel.

Mello CB, Uzeda CD, Bernardino MV, Mendonça-Lopes D, Kelecom A, Fevereiro PCA, Guerra MS, Oliveira AP, Rocha LM, Gonzalez MS (2007) Effects of the essential oil obtained from *Pilocarpus spicatus* Saint-Hilaire (Rutaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* nymphae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17: 514-520.

Piccolo MI (1994) Métodos de detección y monitoreo de resistencia en Triatomíneos. *Acta Toxicologia Argentina* 2: 56-58.

Pinto Júnior AR, Carvalho RIN, Netto, SP, Weber SH, Souza E, Furiatti RS (2010) Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. *Ciênc. Rural* 40: 637-643.

Rocha DS, Jumberg J, Carcavallo RU, Cunha V, Galvão C (2001) Influência da temperatura e umidade na biologia de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34: 357-363.

Rojas de Arias A, Ferro E, Inchausti A, Ascurra M, Acosta N, Rodrigues E, Fournet A (1995) Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. *Journal Ethnopharmacology* 45: 35-41.

Sandi JTT, Blanco RF (2007) Atividade inseticida do óleo essencial obtido de eucalipto, *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae), sobre o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*, (Coleoptera: Curculionidae). *Biology and Health Journal* 1: 2.

Sfara V, Zerba EN, Alzogaray RA (2006) Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1001: 89-84.

Stamopoulos DC, Damos D, Karagianidou G (2007) Bioactivity of Five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 4: 571-577.

Sukontason KL, Boonchu N, Sukontanson K, Choochote W (2004) Effects of eucalyptol on house fly (Diptera: Muscidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 46: 97-101.

Tawatsin A, Wratten SD, Scott RR, Thavara U, Techadamrongsin Y (2001) Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology* 26:76-82.

Tripathi AK, Prajanpati V, Aggarwal KK, Kumar RS (2001) Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castanaeum* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Journal Economic Entomology* 94: 979–983.

Valladares GR, Ferreyra D, Defago MT, Carpinella MC, Palacios S (1999) Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia* 70: 421-424.

Vassena CV, Picollo MI (2003) Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. *Revista Toxicología en línea* 4397: 1-21.

WHO. World Health Organization. Innovative vector control interventions. TDR Business Line 5. 2009.

WHO, World Health Organization. Programmes and Projects. Fact sheets. N° 340/ JUNE 2010.

Zerba EN (1999) Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. *Medicina* 59: 41-46.