



Atividade larvívica de óleos essenciais de Myrtaceae e Lamiaceae contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), em condições de semi-campo

Larvicidal activity of Myrtaceae and Lamiaceae essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), in semi-field conditions

Actividad larvívica de aceites esenciales de Myrtaceae y Lamiaceae contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), en condiciones de semicampo

DOI: 10.55905/revconv.17n.8-233

Originals received: 07/15/2024

Acceptance for publication: 08/05/2024

Igor Luiz Souza da Cruz

Mestre em Ciências Ambientais

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Vassouras – Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: igorlscruz@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7376-6184>

Marco Aurélio Guerra Pimentel

Doutor em Entomologia

Instituição de formação: Universidade Federal de Viçosa

Endereço: Sete Lagoas – Minas Gerais, Brasil

E-mail: marco.pimentel@embrapa.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9690-8790>

Tatiane Aparecida Nascimento

Mestre em Biotecnologia Vegetal

Instituição: Universidade Federal de Lavras

Endereço: Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: tatianeapnasc@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7534-4797>

Simone Pereira Alves

Mestre em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Vassouras – Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: enomisalves@hotmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6681-3985>



Marise Maleck

Doutora em Biologia Celular e Molecular
Instituição: Instituto Oswaldo Cruz
Endereço: Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: marise.maleck@gmail.com
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7699-7896>

Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Doutora em Ciências Veterinárias
Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Endereço: Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: mmcqueiroz@gmail.com
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5478-1277>

RESUMO

A crescente resistência de *Aedes aegypti* a métodos convencionais de controle de vetores tem impulsionado a busca por alternativas sustentáveis, como o uso de óleos essenciais. Este estudo investigou a eficácia residual dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana* e *Mentha arvensis* sobre larvas de *Aedes aegypti* em condições de semi-campo, durante 72 horas. A metodologia envolveu a aplicação dos óleos em larvas de terceiro e quarto estágio, com avaliações de mortalidade aos 24, 48 e 72 horas. Os resultados mostraram que o óleo de *Eugenia caryophyllus* foi o mais eficaz e persistente, mantendo alta taxa de mortalidade ao longo do tempo. Em contraste, os óleos de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana* e *Mentha arvensis* apresentaram eficácia decrescente. Estes achados indicam que, embora os óleos essenciais tenham potencial como biopesticidas, a volatilidade e a exposição ambiental podem reduzir sua eficácia, sugerindo a necessidade de estratégias de reaplicação ou tecnologias de liberação lenta. A pesquisa destaca a relevância de considerar fatores ambientais na formulação e aplicação desses produtos como alternativas sustentáveis no controle de *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, *Mentha arvensis*, controle de vetores.

ABSTRACT

The increasing resistance of *Aedes aegypti* to conventional vector control methods has driven the search for sustainable alternatives, such as essential oils. This study investigated the residual efficacy of essential oils from *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, and *Mentha arvensis* on *Aedes aegypti* larvae under semi-field conditions over 72 hours. The methodology involved applying the oils to third and fourth instar larvae, with mortality assessments at 24, 48, and 72 hours. The results showed that *Eugenia caryophyllus* oil was the most effective and persistent, maintaining a high mortality rate over time. In contrast, the oils from *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, and *Mentha arvensis* exhibited decreasing efficacy. These findings indicate that, although essential oils have potential as biopesticides, volatility and environmental exposure may reduce their effectiveness, suggesting the need for reapplication strategies or slow-release technologies. The research highlights the importance of considering environmental factors in the formulation and application of these products as sustainable alternatives for controlling *Aedes aegypti*.



Keywords: *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, *Mentha arvensis*, vector control.

RESUMEN

La creciente resistencia de *Aedes aegypti* a los métodos convencionales de control de vectores ha impulsado la búsqueda de alternativas sostenibles, como el uso de aceites esenciales. Este estudio investigó la eficacia residual de los aceites esenciales de *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana* y *Mentha arvensis* sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de semillero durante 72 horas. La metodología incluyó la aplicación de estos aceites en larvas de tercer y cuarto estadio, con evaluaciones de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas. Los resultados mostraron que el aceite de *Eugenia caryophyllus* fue el más eficaz y persistente, manteniendo una alta tasa de mortalidad a lo largo del tiempo. En contraste, los aceites de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana* y *Mentha arvensis* mostraron una eficacia decreciente. Estos hallazgos indican que, aunque los aceites esenciales tienen potencial como biopesticidas, la volatilidad y la exposición ambiental pueden reducir su eficacia, sugiriendo la necesidad de estrategias de reaplicación o tecnologías de liberación lenta. La investigación destaca la importancia de considerar factores ambientales en la formulación y aplicación de estos productos como alternativas sostenibles para el control de *Aedes aegypti*.

Palabras clave: *Eugenia caryophyllus*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, *Mentha arvensis*, control de vectores.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a dengue continua sendo um desafio de saúde pública, com um cenário epidemiológico crítico caracterizado por uma alta incidência de casos, hospitalizações e óbitos. Em resposta a essa situação alarmante, o Ministério da Saúde (MS) incorporou, em dezembro de 2023, a vacina contra a dengue no Calendário Nacional de Vacinação, um marco importante na luta contra essa doença. No entanto, a disseminação da resistência a inseticidas entre as populações de mosquitos vetores, como o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), apresenta um obstáculo para o controle eficaz da doença (Elidio *et al.*, 2024).

A dengue teve um impacto econômico expressivo no Brasil. Entre 2012 e 2013, os custos médicos diretos foram, em média, de 164 milhões de dólares. Após ajuste por subnotificação, esse valor aumentou para 447 milhões de dólares. Além disso, o Brasil e a América do Sul enfrentam uma das piores epidemias de dengue da história (Freitas *et al.*, 2024; Marczell *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, a distribuição da dengue e de outras arboviroses tem se expandido para



regiões de latitudes e altitudes mais elevadas, atribuída, em parte, às dificuldades no controle do vetor e à urbanização incompleta. Essa tendência, mais acentuada em partes da América Latina e da Ásia, expõe uma parcela crescente da população mundial aos riscos dessas doenças. O rápido surto de Zika entre 2013 e 2016 destacou a disseminação do vírus por viagens aéreas e terrestres. Estudos recentes apontam para o aumento da temperatura e da precipitação como fatores influentes nos surtos de dengue, embora a compreensão dos fatores subjacentes a essa tendência seja limitada pela falta de estudos de longo prazo. Assim, torna-se essencial desenvolver abordagens adequadas para compreender as complexas interações entre o clima e a dinâmica da doença, visando informar estratégias eficazes de prevenção e controle (Barcellos *et al.*, 2024).

A busca por estratégias inovadoras para lidar com esse desafio torna-se indispensável, considerando a necessidade de medidas alternativas diante da reduzida eficácia dos métodos tradicionais de controle (Kweka *et al.*, 2023).

Nesse contexto, o desenvolvimento de produtos para controle de vetores é importante para reduzir os riscos de epidemias, e o uso de plantas com atividade inseticida e larvicida se mostra uma alternativa promissora. As plantas produzem diversos compostos bioativos que são biodegradáveis e apresentam menor risco de desenvolvimento de resistência por parte dos vetores. Entre essas alternativas, destacam-se os óleos essenciais, que são misturas complexas com aromas intensos e contêm vários metabólitos secundários, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (Luz *et al.*, 2020).

Para validar tais estratégias antes de sua implementação prática, é imprescindível conduzir testes em condições de campo controladas, como os sistemas semi-campo (SFS). Esses sistemas fornecem um ambiente seguro para experimentos, simulando condições naturais enquanto garantem a contenção necessária para evitar a liberação acidental dos organismos testados (Ritchie *et al.*, 2011).

Estudos realizados em semi-campo com insetos da ordem Diptera concentram-se principalmente no controle biológico, utilizando metodologias mais aprimoradas e bem delineadas. A identificação dos componentes desses inseticidas facilita a compreensão de seus mecanismos de ação e da resistência dos insetos. Além disso, muitos desses inseticidas são facilmente obtidos comercialmente e já possuem concentrações definidas (Fansiri *et al.*, 2006; Allgeier; Kästel; Brühl, 2019; Marcombe *et al.*, 2018). Isso permite o aproveitamento de produtos já existentes, contribuindo para a sustentabilidade e eficácia no controle das populações de



insetos.

Biopesticidas à base de óleos essenciais estão se destacando como uma inovação no manejo de pragas na agricultura contemporânea e orgânica. Apesar de utilizados como inseticidas há duas décadas, seu potencial completo ainda não foi totalmente explorado devido à rápida volatilidade e à baixa atividade residual. Reconhecidos pela segurança, sustentabilidade ambiental e compatibilidade com programas de controle biológico, esses biopesticidas apresentam baixa toxicidade para mamíferos e são amplamente acessíveis globalmente a custos moderados. Compostos por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, esses óleos podem ser aplicados diretamente como pesticidas ou como componentes ativos em formulações específicas, agindo como inseticidas de contato, fumigantes, repelentes e inibidores de alimentação, afetando os processos metabólicos dos insetos que resultam em sua rápida eliminação (Mossa, 2016).

A crescente valorização da eficácia dos inseticidas à base de óleos essenciais e sua aplicação como ferramentas alternativas para melhorar não apenas a saúde humana, mas também a qualidade e segurança dos alimentos na produção agrícola e processamento, abrirá caminho para a expansão do mercado de inseticidas naturais nos próximos anos. Isso proporcionará oportunidades para o desenvolvimento de novos inseticidas e repelentes contra insetos vetores, com impacto reduzido no meio ambiente e na saúde humana (Benelli; Pavelac, 2018; Maggi; Benelli, 2018).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito residual dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus staigeriana*, *Eugenia caryophyllus* e *Mentha arvensis* sobre larvas de *Ae. aegypti* em condições de semi-campo ao longo de 72 horas, comparando a eficácia e persistência com os padrões de controle positivo.

2 METODOLOGIA

Os óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* (Myrtaceae), *Eucalyptus staigeriana* (Myrtaceae), *Eugenia caryophyllus* (Myrtaceae) e *Mentha arvensis* (Lamiaceae) utilizados no estudo foram obtidos comercialmente, em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, localizado em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

O produto utilizado como controle positivo foi fornecido por meio de uma parceria com o Centro de Vigilância em Saúde da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Vassouras, Rio de Janeiro, Brasil.

Após a fase de testes em laboratório realizada no Laboratório de Insetos Vetores da Universidade de Vassouras, os óleos essenciais que demonstraram atividade larvicida foram submetidos a validação em testes de semi-campo. Esses bioensaios em semi-campo, utilizando larvas de *Ae. aegypti*, foram conduzidos no Campo Experimental da Universidade de Vassouras (22°23'30.20"S 43°39'37.54"O – Figura 1).

Figura 1. Localização (em amarelo) do teste de semi-campo.



Fonte: Google Earth Pro (2023).

Foram utilizados recipientes de polipropileno (550 mL), simulando criadouros artificiais capazes de acumular água nos ambientes domiciliares. Os recipientes contendo água e levedura de cerveja (Lev Life) foram deixados nos pontos de teste por 24h, para envelhecimento do criadouro, e foram telados para evitar a interação com outros animais. Foi utilizada a concentração CL₉₅, obtida através dos bioensaios em laboratório, diluída em DMSO (Dimetilsulfóxido) em tubos Falcon de 15 mL (Figura 2). Cada recipiente teve quatro réplicas, conforme as diretrizes para testes de pequena escala simulados em campo do World Health Organization (2005), sendo um grupo controle negativo (apenas com o solvente DMSO utilizado para diluir a substância), um grupo controle positivo (com o larvicida Espinosade – Natular® DT)



e quatro (04) grupos teste (contendo os óleos essenciais).

Figura 2. Óleos essenciais diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO), utilizados nos bioensaios de semi-campo, com suas respectivas doses (CL_{95}).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Após o período de envelhecimento dos recipientes, 25 larvas de *Ae. aegypti* (criadas em laboratório) no final do 3º e início do 4º instar foram selecionadas e inseridas em recipientes contendo 500 mL de água e alimento, e deixadas por 2 horas para permitir a aclimação das larvas ao ambiente. Em seguida, os óleos essenciais e o controle positivo foram aplicados nos recipientes (500 µL) contendo as larvas, os quais foram cobertos com tela (Massebo *et al.*, 2009) antes de serem devolvidos ao ambiente (Figura 3). Após 24 horas, quantificou-se o número de larvas mortas pós-tratamento (Figura 4). Para avaliar o efeito residual do larvicida, novos lotes de larvas foram introduzidos nos recipientes em intervalos de 48 e 72 horas, com a mortalidade sendo registrada. Durante esse período, foram coletados dados abióticos, como temperatura e umidade relativa (UR).

As larvas foram consideradas mortas quando não houve movimento, ou resposta, ao estímulo mecânico, utilizando a pipeta Pasteur descartável. Larvas que se tornaram pupas foram retiradas dos recipientes e substituídas por novas larvas durante os intervalos de 48 e 72 horas. Durante o teste, as larvas foram alimentadas com levedura de cerveja.

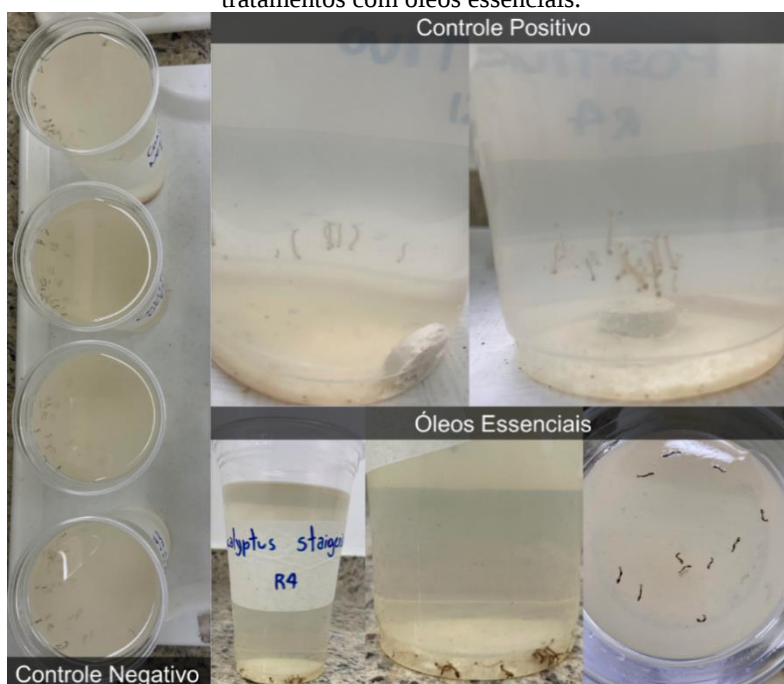


Figura 3. Aplicação das substâncias nos recipientes e posterior telação dos recipientes.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 4. Larvas de *Aedes aegypti* vivas no controle negativo, e larvas mortas no controle positivo e nos tratamentos com óleos essenciais.



Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise dos ensaios larvicidas em semi-campo foi realizada utilizando o ambiente estatístico R (versão 4.4.0) em conjunto com o IDE RStudio (versão 2024.04.1 Build 748). Inicialmente, foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) para avaliar a eficácia dos diferentes tratamentos em três tempos de exposição distintos contra *Ae. aegypti* (24 horas, 48 horas e 72 horas). Em seguida, para as comparações múltiplas entre os tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey, considerando como significativos os valores de $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,1$ em



relação ao controle negativo. O cálculo do desvio padrão foi realizado a partir das médias dos experimentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os efeitos dos óleos essenciais sobre a mortalidade de *Ae. aegypti* em condições de semi-campo foram avaliados em três intervalos de tempo: 24h, 48h e 72h pós-exposição (Tabela 1).

No grupo controle negativo, não houve mortalidade significativa em nenhum dos intervalos de tempo analisados, com apenas uma baixa mortalidade observada às 48h ($0,5 \pm 0,5$), que não se manteve às 72h. O grupo controle positivo apresentou uma mortalidade consistentemente alta (25 ± 0) em todos os intervalos de tempo avaliados, confirmando a eficácia do Espinosade (Espinosina A e Espinosina D) como referência positiva para controle de larvas de *Ae. aegypti*.

Entre os óleos essenciais testados, *E. citriodora* demonstrou uma mortalidade de 100% às 24h (Figura 5), que diminuiu drasticamente (16%) às 48h e se tornou inexistente às 72h. Este padrão sugere uma ação inicial rápida e eficaz que não se mantém ao longo do tempo.

Eucalyptus staigeriana apresentou uma mortalidade inicial de 83% às 24h, que diminuiu para 6% às 48h, e não apresentou mortalidade às 72h. Similar ao óleo de *E. citriodora*, este óleo essencial mostrou uma eficácia decrescente ao longo do tempo.

Eugenia caryophyllus foi um dos óleos essenciais mais eficazes no teste de semi-campo, apresentando uma mortalidade de 100% às 24h, que permaneceu elevada às 48h ($23,5 \pm 1,91$) e às 72h ($24,75 \pm 0,5$). Esses resultados indicam uma ação prolongada e consistente deste óleo essencial, especialmente quando comparado ao controle positivo, que apresentou 100% de mortalidade em todos os três intervalos de tempo.

Tabela 1. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* em teste de semi-campo.

Grupos	n ^f	24h	48h	72h
		X $\pm$ DP		
Controle Negativo	102	0	$0,5 \pm 0,5^b$	0
Controle Positivo	300	$25 \pm 0^{a***}$	$25 \pm 0^{a***}$	$25 \pm 0^{a***}$
<i>Eucalyptus citriodora</i>	216	$25 \pm 0^{a***}$	$4 \pm 1,41^{b*}$	0
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	189	$20,75 \pm 4,64^{a**}$	$1,50 \pm 1,91^b$	0
<i>Eugenia caryophyllus</i>	293	$25 \pm 0^{a***}$	$23,5 \pm 1,91^{a***}$	$24,75 \pm 0,5^{a***}$
<i>Mentha arvensis</i>	200	$25 \pm 0^{a***}$	0^b	0

Experimentos com 25 larvas (L3-L4) de *Ae. aegypti*, para cada grupo de teste e controle, em quadruplicata (nⁱ = 100). Média e desvio padrão (X $\pm$ DP). Valores seguidos pela mesma letra não apresentaram diferença

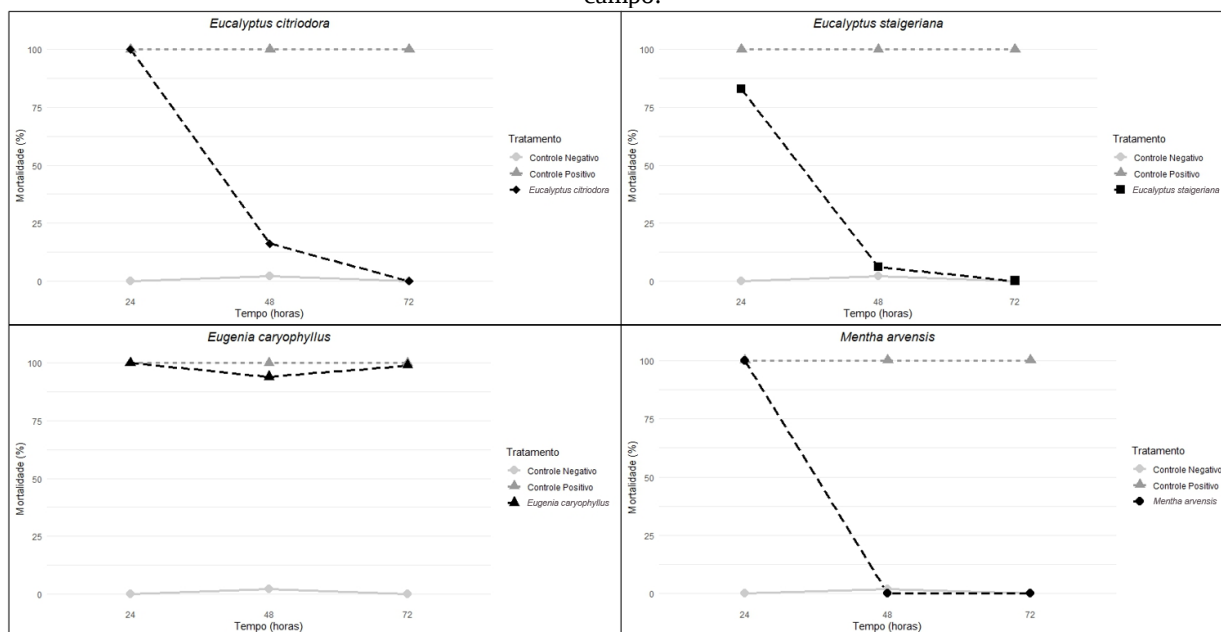


significativa. O nível de significância, de acordo com o teste de Tukey, é representado como *** $p \leq 0,001$; ** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,1$ vs Controle Negativo (DMSO).

n^i = número inicial de larvas; n^f = número final de larvas.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 5. Análise da curva de mortalidade de *Aedes aegypti* expostos a óleos essenciais em condições de semi-campo.



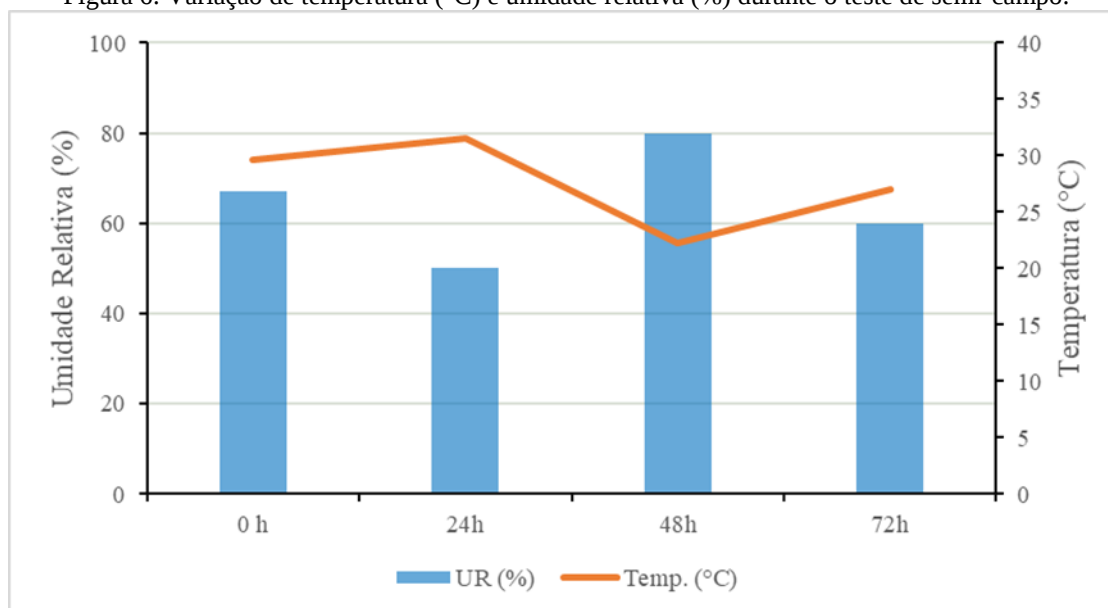
Fonte: Elaborado pelos autores

Por outro lado, *M. arvensis* apresentou uma mortalidade de 100% às 24h, mas não houve mortalidade observada nos intervalos de 48h e 72h. Isso sugere uma eficácia inicial que não se mantém ao longo do tempo, indicando que a mortalidade não foi sustentada nos períodos subsequentes.

Nos testes em semi-campo, observou-se uma variação na mortalidade, com destaque para o óleo de *E. caryophyllus*, que manteve uma alta taxa de mortalidade das larvas desde o início (24h) até o final do teste (72h). A variação de temperatura e umidade podem ser importantes indicativos dessa alteração (Figura 6).



Figura 6. Variação de temperatura (°C) e umidade relativa (%) durante o teste de semi-campo.



Fonte: Elaborado pelos autores.

A diferença observada entre os estudos de laboratório e os de semi-campo pode ser atribuída à degradação dos compostos devido à exposição à luz solar, o que aumenta a toxicidade. Mesmo utilizando a CL₉₅, foi observada mortalidade de 100% em três tratamentos (*E. citriodora*, *E. caryophyllus* e *M. arvensis*) dentro de 24 horas. A exposição dos extratos vegetais, em concentrações menores, à luz solar provoca a degradação das moléculas em metabólitos secundários, que são considerados responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade em insetos (Kweka *et al.*, 2011; Arfsten; Schaeffer; Mulveny, 1996).

Em meio a toda essa complexidade, Kweka *et al.* (2023) compararam dados de mortalidade em semi-campo com dados de mortalidade em laboratório, observando que a exposição solar prolongada pode levar à redução da toxicidade dos óleos essenciais. Essa variação, que também foi observada nos dados obtidos neste estudo, é atribuída à degradação dos compostos ativos em metabólitos de menor toxicidade devido à exposição à luz solar. Devido a esse fator, ao lidar com produtos naturais, é fundamental considerar alternativas para reaplicação frequente do produto ou desenvolver tecnologias de liberação lenta, semelhantes ao *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*). Essas tecnologias permitiriam que os compostos ativos permanecessem eficazes contra as larvas por um período mais prolongado, sem causar efeitos adversos aos organismos não-alvo e resistindo à degradação no ambiente externo.



Contribuindo para a compreensão da degradação de óleos essenciais, Amer e Mehlhorn (2006) destacaram que a eficácia na mortalidade está mais relacionada à volatilidade do óleo do que à exposição à luz (não solar). Neste estudo, observou-se que a luz não afetou a toxicidade dos óleos, sendo sua atividade semelhante tanto na exposição à luz quanto na escuridão. Em contrapartida, as soluções armazenadas em recipientes abertos (seja na luz ou na escuridão) perderam sua eficácia após um curto período de tempo. Considerando que os recipientes do teste de semi-campo foram protegidos com tecido *voil*, a possível volatilização dos componentes pode ter sido determinante para a diminuição da eficácia dos óleos essenciais de *E. citriodora*, *E. staigeriana* e *M. arvensis* contra *Ae. aegypti*. Portanto, destaca-se que a rápida evaporação dos compostos voláteis nos óleos, quando expostos em recipientes abertos, pode influenciar na redução da toxicidade.

Pavela e Sedlak (2018) observaram que a atividade inseticida do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) é diretamente influenciada pela temperatura. Eles notaram que os compostos majoritários desse óleo, como p-cymene, thymol e carvacrol, apresentavam diferentes níveis de toxicidade contra o mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 ao variar a temperatura entre 15-30 °C. Corroborando esses achados, Malika, Kamel e Dhazouilli (2016) demonstraram que cada substância reage de maneira única a diferentes temperaturas. Por exemplo, o limoneno mostrou maior toxicidade a 25 °C, enquanto o carvacrol teve sua maior eficácia a 20 °C, e o timol apresentou pouca variação dentro da faixa de temperatura estudada.

No presente estudo, os óleos essenciais foram testados em condições de semi-campo, em que a temperatura alcançou um pico de 31,5 °C em 24 horas. A eficácia dos óleos essenciais, exceto o de *E. caryophyllus*, em 48 e 72 horas pode ter sido comprometida por esse fator. Dessa forma, torna-se indispensável conhecer a temperatura ideal para cada um dos componentes presentes nos óleos essenciais.

Para que um óleo essencial seja efetivamente utilizado como inseticida, ele deve atender a dois critérios importantes estabelecidos por Pavela (2015): (1) causar mortalidade suficiente em testes larvicidas padrão, atingindo uma $CL_{50} \leq 100$ ppm; e (2) ter sua composição química conhecida. Buscando determinar uma dose ideal, a concentração utilizada no estudo para o óleo de *E. caryophyllus* (171,13 ppm) mostrou-se eficaz no controle de larvas até 72 horas, especialmente em comparação com o controle positivo. Este controle positivo, um derivado da fermentação biológica de *Saccharopolyspora spinosa*, é um organismo de ocorrência natural no



solo e é utilizado por agentes de endemia da Secretaria de Vigilância do município de Vassouras. Embora o controle biológico continue sendo uma solução viável, é fundamental explorar outras alternativas que também possam contribuir de forma positiva para o controle do *Ae. aegypti*.

Pavela (2009), com a espécie de culicídeo *Cx. quinquefasciatus*, destacou que, além da concentração do óleo essencial, o estágio larval, a temperatura e o mecanismo de ação são fatores determinantes para alcançar a mortalidade efetiva. Ao testar 22 óleos essenciais, observou-se uma variação nos resultados de mortalidade dentro de 24 horas, sublinhando a necessidade de concentrações específicas para cada óleo, como evidenciado neste estudo. Pavela também enfatiza a importância de compreender a composição química dos óleos essenciais e a possível sinergia entre seus componentes, especialmente os compostos monoterpênicos.

A escassez de dados publicados aplicando a metodologia de semi-campo ressalta a necessidade urgente de estudos para explorar a bioatividade inseticida de óleos essenciais fora de condições laboratoriais controladas. Embora haja diferenças comportamentais entre populações de mosquitos em semi-campo e insetos de vida livre, testes realizados nessa escala permitem entender melhor como utilizar óleos essenciais de forma eficaz, além de identificar suas limitações. Estudos que adotam essa abordagem (Mdoe *et al.*, 2014a; Mdoe *et al.*, 2014b) para avaliar tais características dos óleos essenciais têm gerado informações valiosas, proporcionando entendimento sobre o efeito residual, o mecanismo de ação, a relação dose-resposta e as interações dos óleos essenciais com o ambiente externo.

O efeito residual observado neste estudo foi fundamental para avaliar a eficácia dos óleos estudados no controle de larvas. Todos os óleos apresentaram uma mortalidade acima de 80% nas primeiras 24 h, com uma diminuição nas horas subsequentes avaliadas, exceto o óleo de *E. caryophyllus*. Resultados semelhantes foram observados por Kweka *et al.* (2023) ao compararem os testes em laboratório. Em seu estudo com o óleo essencial das folhas de *Feronia limonia* L. (Rutaceae) em condições de semi-campo, observou-se um padrão de mortalidade menor entre 24 e 48 h, com taxas de 12,5% e 17,5%, respectivamente. Isso contrasta com os ensaios em laboratório, que registraram taxas de mortalidade de 19,42% e 41,28% nas mesmas horas de avaliação.

Thiagalechumi *et al.* (2014), em testes de laboratório para avaliar o efeito residual de extratos vegetais de *Ipomoea cairica* L. (Convolvulaceae), demonstraram que o extrato é menos persistente em comparação com inseticidas químicos convencionais. O curto período de eficácia



residual do extrato vegetal também pode ser visto como um aspecto positivo em termos de conservação ambiental, reduzindo as preocupações relacionadas à presença de resíduos ambientais que representam um risco para organismos não-alvo, ao contrário dos inseticidas sintéticos convencionais. O tempo de persistência do extrato vegetal foi suficiente para eliminar a população de *Cx. quinquefasciatus* dentro da primeira semana após a aplicação.

Em termos de persistência ambiental, os pesticidas sintéticos, conforme destacado por Smith e Perfetti (2020), têm uma média de duração de 4578,9 h (190,8 dias). Em comparação, os pesticidas naturais derivados de plantas possuem uma média de persistência de 2402,5 h (100,1 dias). Essa diferença é crucial para decisões futuras sobre a escolha de inseticidas, visando um controle de vetores mais consciente em relação ao meio ambiente.

Dessa forma, todos os óleos utilizados no estudo seriam eficazes em um intervalo de aplicação de 5/5 dias, tornando os criadouros inabitáveis para *Ae. aegypti*, uma vez que o ciclo do vetor, especialmente na fase larval, requer 5-6 dias para ser concluído. Embora seja necessário reaplicá-los devido à sua biodegradabilidade, os produtos naturais derivados de plantas mostraram-se eficazes por um período curto contra as larvas dos vetores, conforme observado neste estudo.

Apesar de muitos estudos e dados confirmarem a alta eficácia dos óleos essenciais (OEs) contra as larvas de diversas espécies de mosquitos e outros insetos, poucos produtos comerciais estão disponíveis para uso eficaz como larvicidas (Koul; Walia; Dhaliwal, 2008). Isso se deve a vários fatores, conforme elencado por Miresmailli e Isman (2014): os OEs são substâncias ativas relativamente caras, frequentemente obtidas de plantas que não podem ser cultivadas em grande quantidade. Além disso, a composição química dos OEs é bastante variável, resultando em flutuações na sua eficácia biológica. A produção em larga escala também pode ser um desafio devido à disponibilidade limitada de recursos naturais, exigindo ajustes nas formulações para compensar a escassez e o alto custo dos ingredientes, o que afetaria a qualidade do produto. Diferente dos inseticidas sintéticos, os extratos botânicos e óleos essenciais contêm componentes lipofílicos e voláteis, suscetíveis à degradação por oxidação e polimerização, o que resulta na perda de eficácia e qualidade. A exposição ao ar, luz e altas temperaturas pode comprometer ainda a estabilidade desses compostos, limitando seus efeitos residuais, que podem ser curtos ou até inexistentes em alguns casos.



4 CONCLUSÃO

O estudo revelou que o óleo essencial de *E. caryophyllus* apresentou a maior eficácia e persistência na mortalidade de larvas de *Ae. aegypti*, mantendo uma alta taxa de mortalidade ao longo dos três intervalos de tempo avaliados (24h, 48h e 72h), enquanto os óleos de *E. citriodora*, *E. staigeriana* e *M. arvensis* mostraram eficácia decrescente ao longo do tempo. Esses achados contribuem para a compreensão do potencial dos óleos essenciais como alternativas sustentáveis para o controle de *Ae. aegypti*, mas também ressaltam a importância de considerar fatores ambientais na formulação e aplicação desses produtos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro do nosso laboratório, assim como do programa PAEF-IOC/FIOTEC (Ações Estratégicas para o Desenvolvimento e Fortalecimento dos Laboratórios de Pesquisa) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) (Identificação do Processo: IOC-023-FIO-18-2-30). Agradecemos pela bolsa recebida pelo primeiro autor, financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Código Financeiro: 001). Adicionalmente, agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo número: 316254/2021-5) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ (Processo de Identificação: E-26/210.228/2018; E-26/210.982/2021; E-26/200471/2023).



REFERÊNCIAS

- ALLGEIER, S.; KÄSTEL, A.; BRÜHL, C. A. Adverse effects of mosquito control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Reduced chironomid abundances in mesocosm, semi-field and field studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 786-796, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.050>
- AMER, A.; MEHLHORN, H. Persistency of larvicidal effects of plant oil extracts under different storage conditions. **Parasitology Research**, v. 99, n. 4, p. 473-477, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0183-2>
- ARFSTEN, D. P.; SCHAEFFER, D. J.; MULVENY, D. C. The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 33, n. 1, p. 1-24, 1996. <https://doi.org/10.1006/eesa.1996.0001>
- BARCELLOS, C.; MATOS, V.; LANA, R. M.; LOWE, R. Climate change, thermal anomalies, and the recent progression of dengue in Brazil. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56044-y>
- BENELLI, G.; PAVELAC, R. Beyond mosquitoes—Essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. **Industrial Crops & Products**, v. 117, p. 382-392, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.07>
- ELIDIO, G. A.; SALLAS, J.; PACHECO, F. C.; DE OLIVEIRA, C.; GUILHEM, D. B. Atenção primária à saúde: a maior aliada na resposta à epidemia da dengue no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 48, 2024. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2024.47>
- FANSIRI, T.; THAVARA, U.; TAWATSIN, A.; KRASAESUB, S.; SITHIPRASASNA, R. Laboratory and semi-field evaluation of Mosquito Dunks against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae (Diptera: Culicidae). **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 37, n. 1, p. 62-66, 2006.
- FREITAS, A. R.; CHAGAS, A. A.; SIQUEIRA, A. M.; CAVALCANTI, L. P. G. How much of the current serious arbovirus epidemic in Brazil is dengue and how much is chikungunya? **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 34, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100753>
- KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. **Biopesticides International**, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.
- KWEKA, E. J.; NYINDO, M.; MOSHA, F.; SILVA, A. G. Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 129, 2011. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-129>
- KWEKA, E. J.; MDOE, F. P.; LOWASSARI, N. N.; VENKATESALU, V.; SENTHILKUMAR, A. The Laboratory and Semi-Field Larvicidal Effects of Essential Oil



Extracted from *Feronia limonia* against *Anopheles arabiensis* Patton. **Journal of Parasitology Research**, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/5907603>

LUZ, T. R. S. A.; MESQUITA, L. S. S.; AMARAL, F. M. M. D.; COUTINHO, D. F. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. **Acta Tropica**, v. 212, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105705>

MAGGI, F.; BENELLI, G. Essential oils from aromatic and medicinal plants as effective weapons against mosquito vectors of public health importance: Implications for public health. In: **Mosquito-borne Diseases**. Cham: Springer, 2018, p. 69-129. https://doi.org/10.1007/978-3-319-94075-5_6

MALIKA, O.; KAMEL, M.; DHAZOUILLI, Z. Assessing the impact of storage temperature on the stability and biocidal activity of essential oils formulated. Case *Tribolium castaneum* (Herbst) (Insecta, Tenebrionidae). **Journal of Environmental Science and Engineering A**, v. 5, p. 406-415, 2016. <https://doi.org/10.17265/2162-5298/2016.08.003>

MARCOMBE, S.; CHONEPHETSARATH, S.; THAMMAVONG, P.; BREY, P. T. Alternative insecticides for larval control of the dengue vector *Aedes aegypti* in Lao PDR: insecticide resistance and semi-field trial study. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3187-8>

MARCZELL, K.; GARCÍA, E.; ROIZ, J.; SACHDEV, R.; TOWLE, P.; SHEN, J.; SRUAMSIRI, R.; DA SILVA, B. M.; HANLEY, R. The macroeconomic impact of a dengue outbreak: Case studies from Thailand and Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 18, n. 6, 2024. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012201>

MASSEBO, F.; TADESSE, M.; BEKELE, T.; BALKEW, M.; GEBRE-MICHAEL, T. Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against *Anopheles arabiensis* Patton and *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 17, p. 4183-4188, 2009.

MDOE, F. P.; CHENG, S. S.; MSANGI, S.; NKWENGULILA, G.; CHANG, S. T.; KWEKA, E. J. Activity of *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil against *Anopheles gambiae* s.s. **Parasites & Vectors**, v. 7, 2014a. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-209>

MDOE, F. P.; CHENG, S. S.; LYARUU, L.; NKWENGULILA, G.; CHANG, S. T.; KWEKA, E. J. Larvicidal efficacy of *Cryptomeria japonica* leaf essential oils against *Anopheles gambiae*. **Parasites & Vectors**, v. 7, 2014b. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-426>

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2013.10>

MOSSA, A. T. H. Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 5, p. 354-378, 2016.



PAVELA, R. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Industrial Crops and Products**, v. 30, p. 311-315, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.06.005>

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 174-187, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.050>

PAVELA, R.; SEDLÁK, P. Post-application temperature as a factor influencing the insecticidal activity of essential oil from *Thymus vulgaris*. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 46-49, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.021>

RITCHIE, S. A.; JOHNSON, P. H.; FREEMAN, A. J.; ODELL, R. G.; GRAHAM, N.; DEJONG, P. A.; STANDFIELD, G. W.; SALE, R. W.; O'NEILL, S. L. A secure semi-field system for the study of *Aedes aegypti*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 3, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000988>

SMITH, C. J.; PERFETTI, T. A. A comparison of the persistence, toxicity, and exposure to high-volume natural plant-derived and synthetic pesticides. **Toxicology Research and Application**, v. 4, p. 1-15, 2020. <https://doi.org/10.1177/239784732094056>

THIAGALETCHUMI, M.; ZUHARAH, W. F.; AHBI RAMI, R.; FADZLY, N.; DIENG, H.; AHMAD, A. H.; ABUBAKAR, S. Assessment of residual bio-efficacy and persistence of *Ipomoea cairica* plant extract against *Culex quinquefasciatus* Say mosquito. **Tropical Biomedicine**, v. 31, n. 3, p. 466-476, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. Geneva: WHO, 2005.