

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ACTIVIDADE INSECTICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE *AZADIRACHTA INDICA* E *RICINUS COMMUNIS* L SOBRE LARVAS DE *ANOPHELES SPP* E *AEDESSPP*

Jose Andre Barroso<sup>1</sup>

**RESUMO:** O presente trabalho foi realizado com objectivo de avaliar a eficácia dos óleos essenciais extraídos de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L sobre larvas de *Anopheles spp* e *Aedes spp*. Os testes foram conduzidos no laboratório biológico da Faculdade de Ciências - Universidade Agostinho Neto em salas climatizadas a temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}$  C. Para a obtenção das populações de *Anopheles spp* e *Aedes spp* colectou-se directamente porções de água contendo larvas e ovos em criadouros existentes no distrito do Sambizanga e utilizou -se armadilhas de colecta de larvas e ovos no município de Viana, e distrito da Maianga. Para a obtenção dos óleos essenciais utilizou-se o método de prensagem a frio descrito por PINHEIRO, 2003. As larvas obtidas foram contadas, separadas e transferidas, para copos plásticos transparentes descartáveis com capacidade 100 ml contendo 30 ml de água, contabilizou-se 15 larvas por copo. Verificou-se a mortalidade das larvas de *Anopheles spp* após 12, 24, e 36 horas e para larvas *Aedes spp* em 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias de exposição ao tratamento. Constatou-se que em todas as concentrações testadas dos óleos essenciais das espécies vegetais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* ocasionaram mortalidade de 100% da população de larvas *Anopheles spp* em 24 horas, com a CL<sub>100</sub> de 947 ppm. Enquanto sobre as larvas de *Aedes spp* observou-se maior eficácia na acção conjunta dos óleos essenciais ocasionando mortalidade de 100% da população na concentração de 947 ppm em 4 dias.

1250

**Palavras - chaves:** *Anopheles spp*. *Aedes spp*. Óleo essencial. Espécie. Vegetais.

**ABSTRACT:** The present work was carried out to evaluate the effectiveness of essential oils extracted from *Azadirachta indica* and *Ricinus communis* L on *Anopheles spp* and *Aedes spp*. The tests were carried out in the biological laboratory of the Faculty of Sciences - Universidade Agostinho Neto in air-conditioned rooms at a temperature of  $25 \pm 2^{\circ}$  C. To obtain the populations of *Anopheles spp* and *Aedes spp*, portions of water containing larvae and eggs were collected directly from breeding sites. existing in the district of Sambizanga and traps were used to collect larvae and eggs in the municipality of Viana, and district of Maianga. To obtain the essential oils, the cold pressing method described by PINHEIRO, 2003 was used. The larvae obtained were counted, separated and transferred to disposable transparent plastic cups with a capacity of 100 ml containing 30 ml of water, counting 15 larvae per cup. Mortality was verified for *Anopheles spp* larvae after 12, 24, and 36 hours and for *Aedes spp* larvae at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 days of exposure to the treatment. It was found that at all tested concentrations of essential oils from plant species of *Ricinus communis* L and *Azadirachta indica* caused 100% mortality of the *Anopheles spp* larvae population in 24 hours, with an LC<sub>100</sub> of 947 ppm. While on *Aedes spp* larvae, greater efficiency was observed in the joint action of essential oils causing mortality of 100% of the population at a concentration of 947 ppm in 4 days.

**Keywords:** *Anopheles spp*. *Aedes spp*. Essential oil. Species. Vegetal.

<sup>1</sup> Universidade Privada de Angola- FCS

## I. INTRODUÇÃO

Aproximadamente 500 milhões de casos de malária resultam em 2,7 milhões de mortes por ano. Segundo dados da OMS, a malária é a 4ª maior causa de mortes entre crianças com menos de 5 anos de idade (WHO, 2005). As filaríases linfáticas apresentam morbidade para cerca de 120 milhões de pessoas no mundo. A dengue, principalmente na sua forma hemorrágica, atinge mais de 2,5 bilhões de pessoas, gerando anualmente cerca de 24 mil óbitos (SEVERSON *et al*, 2001).

O paludismo ou malária em Angola ainda é a primeira causa de morte, de doença e de absentismo laboral e escolar. Esta representa cerca de 35% da demanda de cuidados curativos, 20% de internamentos hospitalares, 40% das mortes perinatais e 25% de mortalidade materna (Programa Nacional do Controle da Malária, 2010). A malária tem, não só um impacto negativo sobre a saúde das populações, como também sobre o desenvolvimento social destas tornando-as mais pobres.

Estudos etnobotânicos recentes têm mostrado muitas plantas com propriedades terapêuticas de uso rotineiro. Este fato tem contribuído no conhecimento e na preservação de nossa flora. No entanto, à aplicação de métodos cientificamente controlados são necessários na investigação do potencial fitoterápico destas plantas visando um aproveitamento racional (CONCEIÇÃO, 2006).

Por muito tempo utilizou-se o DDT, porém este composto tem a capacidade de persistir durante muito tempo no ambiente, acumulando-se nos organismos de animais e vegetais, desta forma seu uso foi desaprovado. Porém o uso freqüente de inseticidas (organofosforados, carbamatos e piretróides) pode levar ao desenvolvimento de resistência do mosquito a estes compostos, comprometendo o controle e favorecendo a transmissão de doenças (CARVALHO *et al*, 2004). Além do desenvolvimento de resistência nas populações de mosquitos aos inseticidas, pode ocorrer a diminuição na população de inimigos naturais, riscos de saúde para homens e animais, contaminação dos lençóis freáticos e diminuição da biodiversidade (LACEY *et al.*, 2001).

Actualmente novas metodologias estão sendo desenvolvidas *Azadiractha indica* indica em substituição a luta química, como exemplo a utilização de extratos vegetais com actividade insecticida. Vantagens da utilização deste são pelo facto de não serem tóxicos para maior parte dos outros animais e plantas e por serem biodegradáveis, de modos que não contaminam o ambiente (PIMENTA, *et al* 2006).

A utilização de plantas com propriedades insecticidas não é uma prática recente. (ROEL, *et al* 2000). Os primeiros fitoinsecticidas foram a piretrina extraída do *Chrysanthimum cinerariaefolium*, nicotina (*Nicotina tabacum* L), a rotenona (*Derris sp*) a rianodina (*Rhyania speciosa*) e sabadina (*Schoenocaulon officinale*) (LEGUNNES & RODRIGUES, 1992). A actividade insecticida de vegetais contra mosquito, já foi estudada para o género *Aedes* com extratos de *Nicotina tabacum* (QUIRINO, 2009), *Tagetes pusila* (CHANTRAINE *et al.*, 1998) *Juniperus virginiana* (AMER & MEHLHORN, 2006) *Cryptomeria japónica* (CHENG *et al.*, 2003).

Deste modo, considerando a grande escassez sobre estudos da actividade insecticida de vegetais principalmente em Angola, e especificamente para a actividade insecticida do óleo essencial de *Azadiractha indica* e *Ricinus communis* L sobre os dípteros *Aedes spp* e *Anopheles spp*, torna-se fundamental desenvolver pesquisas que avaliem a actividade insecticida destes vegetais sobre estes insectos pragas.

## 2. OBJECTIVOS

### 2.1. Objectivo Geral

- Avaliar a actividade insecticida de *Ricinus communis L* e *Azadirachta indica* sobre larvas de *Aedes spp* e *Anopheles spp*.

### 2.2. Objectivos específicos

- Comparar a actividade insecticida de *Ricinus communis L* e *Azadirachta indica*
- sobre larvas de *Aedes spp* e *Anopheles spp*.
- Avaliar a actividade biocida de duas plantas superiores *Ricinus communis L* e *Azadirachta indica* e testar a eficácia das mesmas sobre larvas de *Aedes spp* e *Anophelesspp*.
- Identificar o estágio de desenvolvimento das larvas de *Aedes spp* e *Anopheles spp*, mais afectado pelos bioinsecticidas produzidos a partir de *Ricinus communis L* e *Azadirachta indica*.
- Determinar as concentrações letais sobre larvas de *Anopheles spp* e *Aedes spp*.

## 3. Material e Métodos

### 3.1. Local da área de estudo

A pesquisa experimental foi realizada no laboratório de animal da Faculdade de Ciências, da Universidade Agostinho Neto.

1252



**Figura 10** - Laboratório de zoologia da Faculdade de Ciências. Sala climatizada a temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}$  C.

### 3.2. Métodos e procedimentos

#### 3.2.1. Obtenção das espécies de *Anopheles spp* e *Aedes spp*

- Coleta feita em criadouros naturais

Para a obtenção das populações de *Anopheles spp* e *Aedes spp*, recolheu – se directamente porções de água contendo larvas e ovos em “criadouros naturais” indevidos, localizados no distrito do Sambizanga.

- Coleta feita em armadilhas com isco alimentar

A coleta com armadilhas efectuou-se no distrito da Maianga e municípios de Viana e Cazenga. Para o efeito colocou-se três armadilhas do tipo PET, com isco alimentar (proteína hidrolisada 5% e melaço 10%) por região e de forma aleatória. As mesmas foram recolhidas após 7 dias e levadas ao laboratório para a identificação e controlo do desenvolvimento dos mosquitos.

**Tabela 1** -Regiões e respectivas coordenadas geográficas das armadilhas para coleta de larvas e ovos de *Anopheles spp* e *Aedes spp*.

| Região (Município/Distrito) | Coordenadas            |
|-----------------------------|------------------------|
| Viana                       | 8°52'49" S 13°20'34" E |
|                             | 8°53'11" S 13°20'29" E |
|                             | 8°53'39" S 13°20'20" E |
| Maianga                     | 8°49'32" S 13°13'43" E |
|                             | 8°49'41" S 13°13'47" E |
|                             | 8°49'35" S 13°13'40" E |
| Sambizanga                  | 8°47'58" S 13°15'49" E |
|                             | 8°47'58" S 13°15'50" E |
|                             | 8°47'57" S 13°15'52" E |



**Figurar** -Esquema da realização do bioensaio para as larvas: **A)** ovos e larvas de *Aedes spp* e *Anopheles spp*. **B)** Larvas do 1º ao 4º instar final **C)** contagem e separação das larvas; **D)** Larvas antes da aplicação do bioinseticida **E)** Larvas submetidas a diferentes concentrações do bioinseticida; **F)** Leitura da mortalidade após 8, 16 e 24 horas. (Fotos do autor)

### 3.4. Colheita e identificação do material vegetal

#### 3.4.1 Plantas Seleccionadas

Para os ensaios de bioactividade sobre os dípteros *Anopheles spp* e *Aedes spp*, foram seleccionadas duas plantas locais *Azadirachta indica* A. Juss.(Figura 9) e *Ricinus communis* L(Figura 8).Asmesmas foram colhidas na província de Luanda nos municípios de Viana, Luanda, e Cacuaco.



**Figura 2**-folhas e frutos de *Ricinus* **Figura 3**-Folhas e Frutos de Neen

#### 3.4.2 Obtenção de óleo essencial a partir de sementes de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L

Para obtenção do óleo essencial, utilizou-se o método de prensagem a frio descrito por (PINHEIRO, 2003), colocou-se 900 g de sementes do material vegetal na estufa a temperatura de  $45 \pm 2^\circ$  C durante 48 horas, posteriormente triturou-se as sementes em um liquidificador de marca Britania Diamante Black 4 a velocidade de 900 watt.

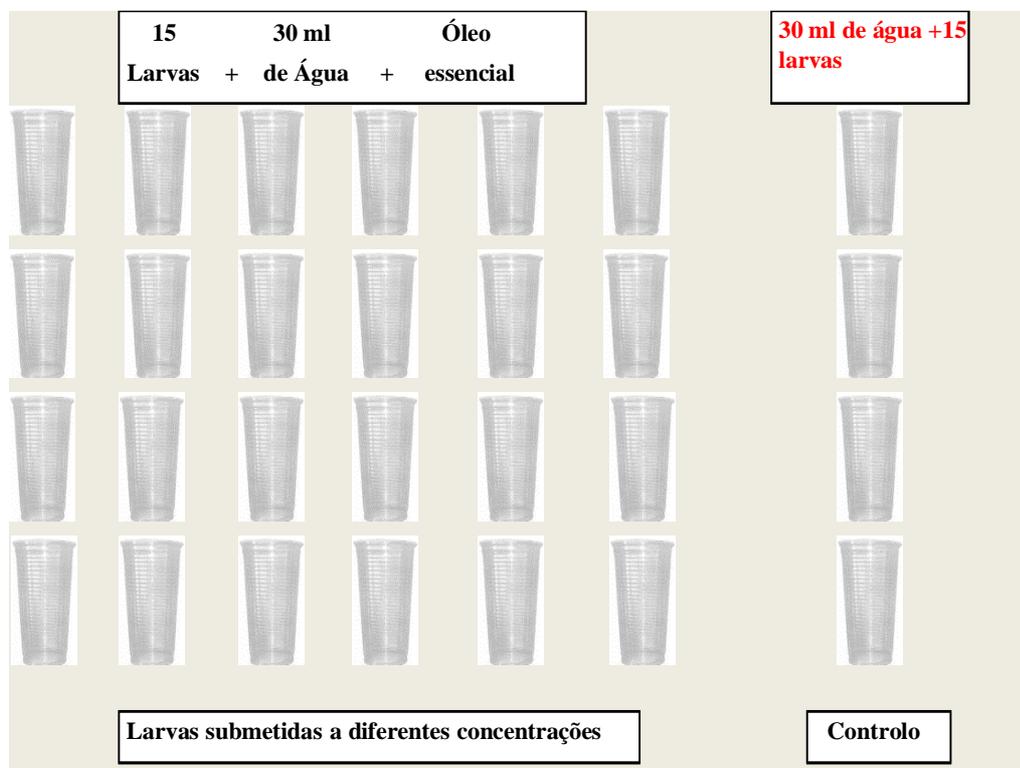
Prensou-se manualmente na máquina de marca oil press. O material aquoso resultante colocou-se num recipiente e selou-se com parafilme para evitar a evaporação. Deixou-se repousar no escuro a temperatura de  $18 \pm 2^\circ$  C numa estufa durante 48 horas. Posteriormente obteve-se um composto heterogéneo com uma fase leve rica em óleo na superfície, uma fase intermediária rica em água, e uma fase pesada rica em sólidos insolúveis. Decantou-se para a separação do óleo essencial e posteriormente filtrou-se para retirar as partículas sólidas suspensas. COELHO, 2006 ao analisar extratos de plantas do Cerrado sobre *Triatomáceas* e *Aedes aegypt* utilizou o método de maceração com hexano e etanol a 95%, os extratos brutos hexanólicos e etanólicos foram obtidos após evaporação do solvente sob pressão reduzida a  $40^\circ$  C.

### 3.5. Efeito sobre a sobrevivência de larvas de *Anopheles spp* e *Aedes spp*

Os bioensaios de actividade larvicida seguiram o protocolo da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1981), com ligeiras modificações. Em geral, o desenho experimental esteve de acordo com ROBERTSON & PREISLER, 1992 e ACCIOLE 2009. Todos os testes foram realizados com larvas do 1º ao 4º instar larval mantidas sob as mesmas condições de temperatura,

e fotoperíodo anteriormente relatadas.

Os bioensaios da atividade larvicida seguiram o mesmo padrão para os dois tipos de óleos essenciais das espécies vegetais seleccionadas. Contudo, diferiram uns dos outros apenas nas concentrações utilizadas e respectivas quantidades de óleos. As larvas foram contadas, separadas e transferidas, com auxílio de uma pipeta de Pauster para copos plásticos transparentes descartáveis com capacidade 100ml contendo 30ml de água desclorada, e adicionou-se 15 larvas por copo. Estas larvas foram expostas a concentrações diferentes dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L (0,5; 1,0; 1,5 2,0, 2,5 3,0 ml). Seleccionou-se as concentrações 1,0; 1,5; e 2,0 e cada concentração preparada foi triplicada, com o seu respectivo controlo contendo apenas 30 ml de água.



**Figura 4** - Ilustração esquemática do desenho experimental do bioensaio de atividade larvicida utilizado para os óleos essenciais das duas espécies de plantas: *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica*. **Fonte:** o autor.

### 3.5.1 Mortalidade das Larvas e Tempo de Exposição aos Óleos

A mortalidade das larvas foram verificadas após 12, 24, e 36 horas para as essências de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L sobre *Anophles spp*, Enquanto as essências de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L sobre *Aedes spp* foi observada após 1,2,3,4,5,6,7 e 8 dias de exposição ao tratamento. Larvas incapazes de atingir a superfície da água ou imóveis quando submetidas a estímulos (batidas sucessivas na parede dos copos com pipeta de Pauster) foram consideradas como larvas mortas (WHO, 1981).

### 3.6. Análise dos Dados

A estimativa das concentrações capazes de ocasionar mortalidade de 95% (CL<sub>95</sub>) e 100% (CL<sub>100</sub>) das larvas, o X<sup>2</sup>, e os intervalos de confiança foram determinados pela análise *Probit* com o auxílio do software Past (Finney, 1971) a partir dos dados de mortalidade obtidos nos bioensaios, com nível de significância de P < 0,05. Calculou-se a Mortalidade corrigida utilizando a fórmula de Abbot.

Mortalidade corrigida = (mortalidade nos frascos teste [%] - mortalidade no frasco controle [%]) / (100% - mortalidade no frasco controle [%]) x 100.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Extracção dos óleos essenciais

A partir da extracção dos óleos essenciais das espécies vegetais *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L por prensagem a frio, foi possível obter suas características físicas - químicas e o seu rendimento em óleos essenciais, os quais são expostos na Tabela 2.

O rendimento de extracção dos extractos ou óleos essenciais de origem vegetal é um factor para levar em conta num produto de origem botânica com acção biológica (ACIOLE, 2009). O maior rendimento foi obtido na extracção do óleo essencial da espécie *Azadirachta indica* L (46%), enquanto para a extracção da espécie *Ricinus communis* L obteve-se (23%). Os nossos resultados foram relativamente inferiores quando comparados a extracção de óleos essenciais de outras espécies vegetais.

ACIOLE, 2009 usando o método de destilação a vapor para 500 g de folhas obteve rendimentos de extracção para *G. friesiana* de (0,52%); *G. hispida* (0,44%); *G. blepharophylla* (0,27%); *Cordia curassavica* (0,25%); e *Pimenta pseudocaryophyllus* (0,48%). Enquanto ARAÚJO, 2007 encontrou valores de rendimento do óleo essencial de *C. curassavica*, a partir de 50g de folhas, que variaram de 0,03 a 0,15%. GIRARD *et al.* 2007 registraram para *P. pseudocaryophyllus*, um rendimento percentual de 2,42 a 3,02% a partir de 200 g de folhas.

A extracção pode variar de acordo com o teor de óleo da semente e do processo industrial utilizado para a extracção do óleo. As sementes de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* possuem um teor de óleo entre 45 a 50%. (AZEVEDO & LIMA, 2001).

A proporção de óleos essenciais extraídos por prensagem a frio é de 30 a 40% enquanto destilação a vapor é de 93% (YUSOFF *et al.*, 2011). Para a avaliação bioinsecticida realizada no nosso trabalho, o método por prensagem a frio mostrou-se vantajoso, por preservar as propriedades dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica*.

LUZIA *et al* 2015 avaliaram a influência dos processos de extracção nas propriedades dos óleos essenciais e verificou que o processo por prensagem é mais adequado quando comparado ao processo de aquecimento, pois tanto o índice de acidez quanto a percentagem de ácidos graxos para o óleo extraído por aquecimento apresentam-se elevados, o que mostra que a temperatura do solvente, no caso a água, contribuiu para uma maior degradação do produto obtido.

Os nossos resultados apresentam bons rendimentos, principalmente se considerarmos a quantidade de sementes usadas de cada espécie vegetal, e os materiais utilizados para a aplicação

do método de extração. Prevendo que eventualmente numa produção em grande escala do nosso bioinsecticida, o rendimento da produção não seria um problema, por estas duas espécies serem ricas em óleos essenciais e estarem amplamente distribuídas.

A utilização desses insecticidas botânicos pode ser vantajosa em relação aos sintéticos, pois esses são provenientes de recursos renováveis e por ser uma mistura de vários compostos activos agindo sinergicamente. Além disso, não colocam em risco outros organismos (BARRETO, 2005).

**Tabela 2** - Características físico-químicas e rendimento dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L obtidos no Laboratório de Zoologia da Faculdade de Ciências – Universidade Agostinho Neto.

| Espécie                   | Aspecto              | Densidade (g/l) | Rendimento (%) |
|---------------------------|----------------------|-----------------|----------------|
| <i>Azadirachta indica</i> | Óleo alaranjado      | 0.93            | 0,46           |
| <i>Ricinus communis</i> L | Óleo castanho-escuro | 0.64            | 0,23           |

#### 4.1.2 Efeito larvicida

#### 4.1.3 Actividade larvicida dos óleos essenciais sobre *Anopheles spp*

Quanto a actividade larvicida dos óleos essenciais *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* observou-se que ambos apresentaram resultados significativos contra sobrevivência de larvas de *Anopheles spp* ( $P \leq 0,05$ ).

Constatou-se que em todas as concentrações testadas dos óleos essenciais das espécies vegetais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* e a acção conjunta de ambas ocasionam mortalidade de 100% da população de larvas *Anopheles spp* em 24 horas, obteve-se a CL100 de 947 ppm = 1ml de óleo (Tabela 3).

No nosso estudo verificou-se excelente potencial actividade insecticida dos óleos essenciais extraídos de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* e a junção de ambos contra larvas de *Anopheles spp*, de modos que não foi possível calcular as concentrações letais que ocasionam a morte de 10%, 50% e 95% da população.

OKUMU *et al.* (2007) testaram o óleo da semente de *Azadirachta indica* sobre larvas de *Anopheles gambiae* e obtiveram uma CL50 de 10,7 ppm. De forma semelhante, menor eficácia foi observada por RAHUMAN *et al.* (2008) com o acetato de gluanol, um triterpeno tetracíclico, sobre as larvas dos mosquitos *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles stephensi*. Esses autores obtiveram CL50 de 14,55; 41,42 e 28,50 ppm para as três espécies, respectivamente.

NATHAN *et al.* (2006), observaram um declínio próximo a 90% na taxa de eclosão de ovos de *Anopheles stephensi* tratados com o extrato de sementes de *Melia azedarach*.

NEVES, 2014 avaliou a actividade larvicida nos tratamentos com extratos de óleo de *Ricinus communis* L em mosquitos do género *Aedes* e *Anopheles* verificando mortalidade independente das concentrações letais (CL<sub>50</sub> de 22,8 mg/ml e CL<sub>90</sub> de 45 mg/ml). O tempo de mortalidade para as concentrações letais CL<sub>50</sub> (36 mg/ml) e CL<sub>100</sub> (58 mg/ml) foi o menor entre os tratamentos.

**Tabela - 3** Análise da actividade larvicida dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* em suas respectivas concentrações letais (CL), intervalos de confiança, após leitura de 24 horas de exposição das larvas de *Anopheles spp* aos óleos essenciais.

| Tempo (Horas) | Concentração      | <i>Azadirachta indica</i> | <i>Ricinus communis</i> L | Mistura        |
|---------------|-------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|
|               | CL <sub>100</sub> | 947                       | 947                       | 947            |
| 24            | IC                | 178,97-1715.03            | 178,97-1715.03            | 178,97-1715.03 |

#### 4.2 Eficácia dos óleos essenciais sobre *Anopheles spp*

Para as concentrações seleccionadas, dos óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Ricinus communis* L e a junção de ambos, verificou-se mortalidade de 100% de larvas *Anopheles spp* em 36 horas para as três concentrações seleccionadas (Tabela 4).

O extrato não mata instantaneamente as larvas, porém as impede de continuarem se alimentando, interferindo no seu desenvolvimento demonstrando ser um regulador de crescimento de insetos, no entanto foi possível observar a eficácia do extrato líquido de neem sobre *Anopheles* em todos os tratamentos realizados em doses e concentrações diferentes, ocorrendo mortalidade no período de 24 á 48 horas. Em trabalhos anteriores realizados com o extrato de neem, mostram que as larvas tratadas podem se desenvolver normalmente até uma próxima muda, mais não conseguem completá-la (VIEGAS, J. 2003). Devido a presença da azadiractina as larvas se tornam incapazes de deixar a cutícula precedente morrendo durante ou logo após a ecdise (VIEGAS, J. 2003).

Nossas observações revelam que a influência dos óleos essenciais não afecta apenas o sistema digestivo, acreditamos que existe também actuação sobre o sistema respiratório. As alterações comportamentais registadas (manutenção no fundo da água), resulta na fraca captação de oxigénio na superfície, por este facto, as larvas de *Anopheles* morrem em menos tempo, pois não apresentam um sifão respiratório como as de *Aedes*.

**Tabela 4-** Mortalidade em 36 horas de larvas de *Anopheles spp* tratados com os óleos essenciais de *Azadirachta*

*indica* e *Ricinus communis* L, e a acção conjunta de ambas, nas concentrações de 1, 1,5 e 2,0 ml.

| Tratamentos.                 | Concentração (ml) | Mortalidad<br>e(%) | Emergenci<br>a(%) | Mortalidad<br>ecorrigida |
|------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|
| <i>Ricinus communis</i><br>L | Test              | 0                  |                   |                          |
|                              | 1                 | 100                | 0                 | 100                      |
|                              | Test              | 0                  |                   |                          |
| <i>Azadirachta indica</i>    | 1,5               | 100                | 0                 | 100                      |
|                              | Test              | 0                  |                   |                          |
|                              | 2                 | 100                | 0                 | 100                      |
| Acção conjunta               | Test              | 0                  |                   |                          |
|                              | 1                 | 100                | 0                 | 100                      |
|                              | Test              | 0                  |                   |                          |
| Acção conjunta               | 1,5               | 100                | 0                 | 100                      |
|                              | Test              | 0                  |                   |                          |
|                              | 2                 | 100                | 0                 | 100                      |

1259

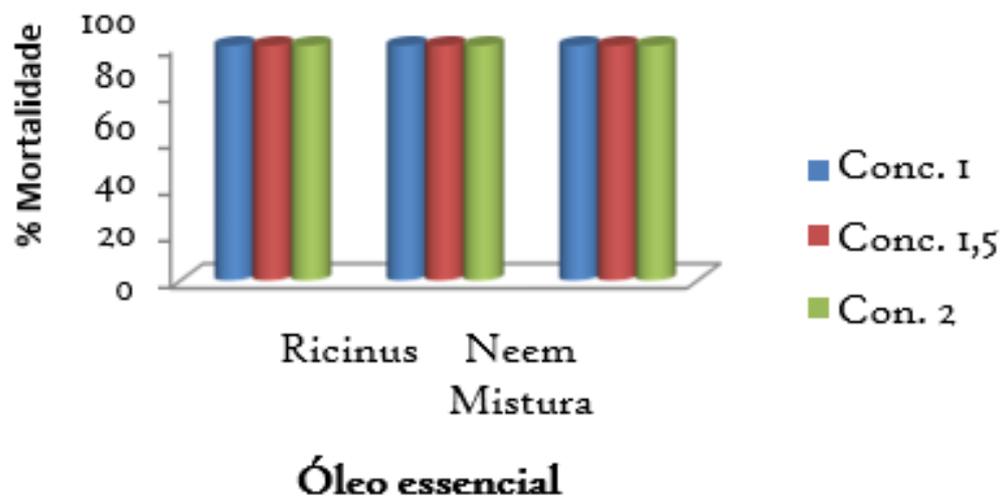


Figura 18 – Mortalidade de *Anopheles* spp, submetidos aos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L e a junção, em três concentrações diferentes.

#### 4.2.1 Actividade larvácida dos óleos essenciais sobre *Aedes spp*

Na actividade larvácida dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* observou-se que ambos apresentaram resultados significativos contra a sobrevivência de larvas *Aedes spp* ( $P \leq 0,05$ ).

Observou-se maior eficácia na acção conjunta dos óleos essenciais ocasionando mortalidade de 100 % da população na concentração 947 ppm (1ml de óleo), em 4 dias. Para a acção do óleo essencial de *Azadirachta indica* sobre *Aedes spp*, observou-se mortalidade de 95% e 100% da população nas concentrações de 947 e 2130 ppm em 6 dias. Enquanto verificou-se a menor eficácia na acção do óleo essencial de *Ricinus communis* L sobre *Aedes spp*, com as CL<sub>95</sub> e CL<sub>100</sub> de 1420 ppm (2.25 ml de óleo) e 2604 ppm (2.7ml de óleo) respectivamente, em 8 dias (Tabela 5). Nossos resultados superam os de ACIOLE, 2009 ao avaliar o efeito insecticida. óleos essenciais de *Cordia curassavicae* e *Pimenta pseudocaryophyllus* sobre larvas de *Aedes aegypti*, verificou que para a CL<sub>10</sub> e CL<sub>50</sub> da primeira espécie o efeito durou 7 e 10 dias e para a segunda espécie durou 18 e 15 dias respectivamente. Enquanto CANDIDO (2011) observou uma eficiência no controle de larvas e de pupas do culicídeo *A. aegypti* usando o óleo de *Ricinus communis*.

A literatura demonstrou grande escassez de estudos sobre potencial insecticida das plantas seleccionadas contra mosquitos, mesmo assim verificamos que estas espécies vegetais possuem um efeito insecticida sistémico contra insectos, abrangendo o grupo artrópoda no geral.

PERON e FERREIRA, 2012 avaliaram a eficiência do extrato de *Ricinus communis* no controle da lagarta do milho, sendo mais eficiente na concentração de 75% onde após oito dias 75% das lagartas haviam morrido. SANTOS et al. 2008 ao utilizar extrato aquoso de folhas de mamona sobre ovos e ninfas de quinto instar do predador *Podisus nigrispinus* observou mortalidade do extrato nas concentrações de 7% e 10%, sendo observado os menores índices de sobrevivência, com 30% e 10%, respectivamente.

BURG e MAYER (1999), ao estudarem o efeito do óleo da semente de *R. communis* sobre pulgões e piolhos descreveram como eficiente no controle desses insectos. Actividade bioinsecticida desse vegetal também foi estudada por Hebling (1996), em formigas cortadeiras, verificando-se eficiência no combate a esse Hymenoptero. Santiago e outros (2008) ao estudarem o efeito do extrato aquoso de frutos verde de mamona sobre larvas e pupas de *Spodoptera frugiperda* observaram uma redução no tempo de vida desses estágios, Rother (2009) identificou efeito tóxico de extratos de folha de *R.communis* sobre larvas de operárias de *Apis mellifera*, usando o óleo da mamona.

A eficácia do óleo de sementes de *A. indica* sobre três fases de desenvolvimento de *L. longipalpis* foi avaliada, demonstrando actividade insecticida sobre todas as fases testadas. No que se refere à actividade ovicida. ABDEL-SHAFY & ZAYED (2002) observaram ao tratar ovos do carrapato *Hyalomma anatolicum excavatum*, um efeito deletério significativo sobre o embrionamento dos ovos com o composto Neem-Azal F com taxas de eclosão variando de 34 a 60%, 15 dias após o tratamento. Em relação ao efeito larvácida, 67,75 ± 2,21% das larvas não chegaram à fase de pupa. A CL<sub>50</sub> verificada nestes estudos para as larvas foi de 60,98 (45,93 - 91,62) mg.mL<sup>-1</sup>.

A literatura consultada demonstrou também a existência de estudos do efeito insecticida de outras espécies vegetais sobre mosquitos, quase na sua maioria relacionados ao género *Aedes*.

QUIRINO (2010) ao avaliar o potencial insecticida de *Nicotina tabacum* sobre *Aedes aegypti*

encontrou as concentrações letais necessárias para matar 50% e 90% da população de 0,45% (1,8ml/400ml de água) e 0,98% (3,92ml/400ml de água). CANDIDO, 2006 realizando o mesmo estudo obteve as CL<sub>50</sub> de 2,13ml/l e CL<sub>90</sub> 84,88ml/l.

No presente estudo, verificou-se que os óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* retardam a metamorfose de *Aedes spp*, permanecendo no mesmo instar larval num período máximo de oito dias.

Nossas observações corroboram com CORRÊA & VIEIRA (2001), afirmando que o neem para além de ser uma planta inibidora, dos frutos pode-se retirar um composto chamado azadiractina, um limonóide, o qual atua diretamente interferindo sobre o funcionamento das glândulas endócrinas que são responsáveis pelo controle da metamorfose nos insectos. E PEREIRA *et al* (2006) demonstrou que a exposição de ovos e pupas de *A. aegypti* ao extrato de folhas de nim causou retardo nos estágios do mosquito em relação ao grupo controle, e as larvas expostas ao extrato tiveram média de mortalidade de 98%.

**Tabela 5** -Análise da actividade larvicida dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* com suas respectivas concentrações letais (CL), intervalos de confiança, qui-quadrado (X<sup>2</sup>) e coeficiente angular (Slope) após leitura de 4, 6, e 8 dias de exposição das larvas de *Aedes aegypti* aos óleos.

| Temp<br>o<br>(Dias<br>) | Concentrações  | <i>Ricinus communis</i> L    | <i>Azadirachta indica</i>    | Mistura                       |
|-------------------------|----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 7                       | CL 100         | 2604ppm<br>(1987.4 - 3221.6) | _____                        | _____                         |
|                         | CL 95          | 1420ppm<br>(883.8 - 1956.3)  | _____                        | _____                         |
|                         | X <sup>2</sup> | 39.83                        |                              |                               |
| 6                       | CL 100         | //////////                   | 2130ppm<br>(1518.2 - 2741.8) | //////////                    |
|                         | CL 95          | //////////                   | 947<br>(178,97-1715.03)      | //////////                    |
|                         | X <sup>2</sup> |                              | 451.84                       |                               |
| 4                       | CL 100         |                              |                              | 947 ppm<br>(178,97 - 1715.03) |
|                         | CL 95          | _____                        | _____                        | _____                         |
|                         | X <sup>2</sup> | _____                        | _____                        | _____                         |

#### 4.2.2 Eficácia dos óleos essenciais sobre *Aedes spp*

Para as concentrações seleccionadas, dos óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Ricinus communis* L sobre *Aedes spp*, verificou-se maior eficácia na acção de *Azadirachta indica* ocasionando 100% de mortalidade das larvas *Aedes spp* nas concentrações 1,5 e 2,0 ml em 8 dias. Enquanto observou-se emergência de 14% e 7% na acção do óleo essencial de *Ricinus communis* sobre *Aedes spp* nas concentrações de 1 e 1,5 respectivamente (Tabela 6).

Vários estudos têm sido realizados nos últimos anos para elucidar as modificações no mecanismo de controlo endócrino induzidas pela azadiractina, que provocam os efeitos observados na inibição de crescimento. Estes estudos permitiram identificar modificações nos níveis de hormônios morfogenéticos como a ecdisona (VIEGAS, J. 2003). Foi identificada uma acentuada similaridade estrutural entre a ecdisona e a azadiractina, entretanto não está claro se os efeitos sobre estas taxas hormonais são diretos ou indiretos (VIEGAS, J. 2003).

Algumas evidências indicam que a azadiractina pode bloquear a liberação de várias substâncias localizadas no sistema nervoso central, assim como a formação de quitina, um polissacarídeo que forma o exoesqueleto de insetos, além de impedir a comunicação sexual, causa esterilidade e diminui a mobilidade intestinal (VIEGAS, J. 2003).

**Tabela 6-** Mortalidade em 8 dias de larvas de *Aedes spp* tratados com os óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L, nas concentrações de 1, 1,5 e 2,0 ml.

| Tratamentos.              | Concentração (ml) | Mortalidade % | Emergência (%) | Mortalidade corrigida |
|---------------------------|-------------------|---------------|----------------|-----------------------|
| <i>Ricinus communis</i> L | Test<br>·<br>1    | 0<br>86       | 14             | 86                    |
|                           | Test<br>·<br>1,5  | 0<br>93       | 7              | 93                    |
|                           | Test<br>·<br>2    | 0<br>100      | 0              | 100                   |
| <i>Azadirachta indica</i> | Test<br>·<br>1    | 0<br>94,4     | 6,6            | 94                    |
|                           | Test<br>·<br>1,5  | 0<br>100      | 0              | 100                   |
|                           | Test<br>·<br>2    | 0<br>100      | 0              | 100                   |

Verificou-se uma redução no tempo de mortalidade e ausência de emergência na acção conjunta dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* sobre larvas *Aedes spp*, ocasionando mortalidade de 100% da população submetida em 4 dias. (Tabela 7).

**Tabela 7** - Mortalidade em 4 dias de larvas de *Aedes spp* tratados com a acção conjunta dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L, nas concentrações de 1, 1,5 e 2,0 ml.

| Tratamento. | Conc ntração (ml) | Mortalidade (%) | Emergencia (%) | Mortalidade corrigida |
|-------------|-------------------|-----------------|----------------|-----------------------|
| Mistura     | Test              | 0               |                |                       |
|             | •                 |                 |                |                       |
|             | 1                 | 100             | 0              | 100                   |
|             | Test              | 0               |                |                       |
|             | •                 |                 |                |                       |
|             | 1,5               | 100             | 0              | 100                   |
| Mistura     | Test              | 0               |                |                       |
|             | •                 |                 |                |                       |
|             | 2                 | 100             | 0              | 100                   |
|             | •                 |                 |                |                       |

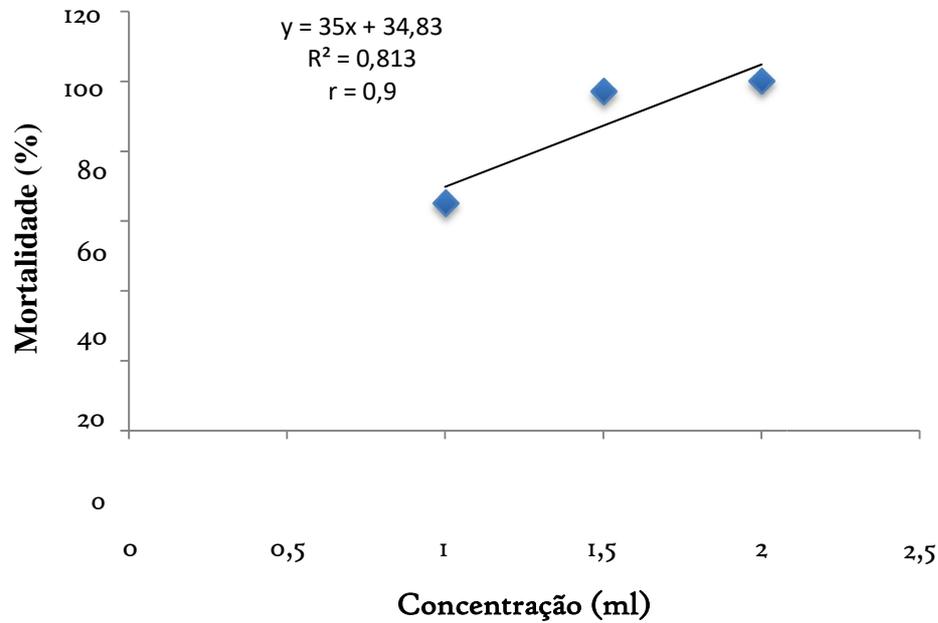
#### 4.3 Inter – relação entre a concentração dos óleos essenciais e a mortalidade de larvas *Anopheles spp*.

A análise de correlação entre a concentração dos óleos essenciais das espécies vegetais de *Azadirachta indica*, *Ricinus comunis* L e a acção conjunta e a mortalidade demonstra uma associação positiva forte ( $r = 0,9$ ) entre a variação da da concentração dos óleos essenciais e a variação da mortalidade de larvas de *Anopheles spp*. (Figuras 20-22). O estudo demonstrou uma influência directa da variação da concentração dos óleos essenciais sobre a variação da percentagem de mortalidade de larvas de *Anopheles spp* durante 24 horas.

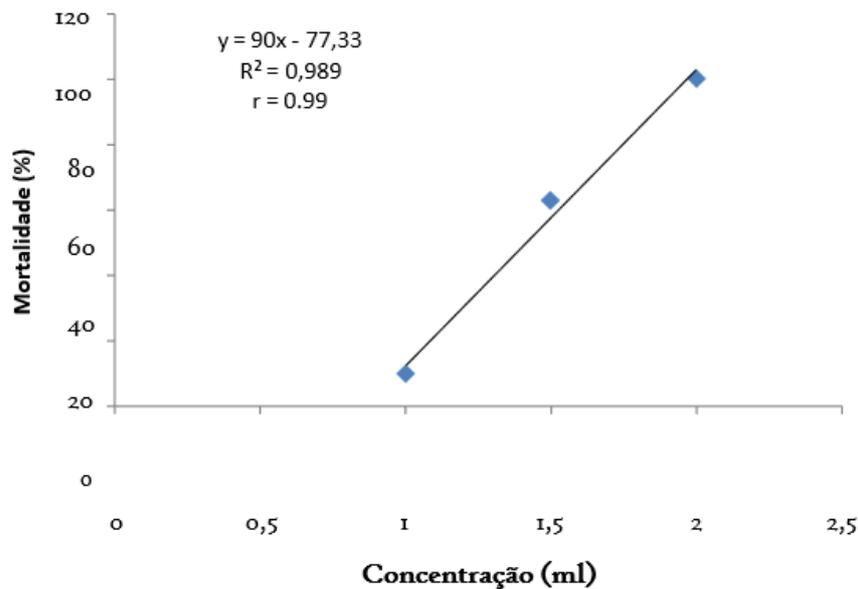
No nosso estudo observou-se maior eficácia da ação conjunta dos óleos essenciais, ocasionando 96, 100, e 100%, nas concentrações de 1, 1,5 e 2,0ml respectivamente em 24 h oras. (Figura 22) A ação do óleo essencial de *Azadirachta indica* apresentou-se semelhante adescrita acima ocasionando mortalidade de 65, 97 e 100% nas concentrações 1, 1,5 e 2ml respectivamente. (Figura 20) A menor eficácia observada foi do óleo essencial de *Ricinus communis* L ocasionando mortalidade de 10, 63, e 100% nas mesmas concentrações descritase no mesmo tempo (24 horas) (Figura 21).

Porém verificou-se que apesar de existir diferenças significativas no modo de atuação dos óleos essenciais, todos extratos ocasionam mortalidade de 100% da população de *Anopheles spp* em 24 horas na concentração de 2ml de óleo essencial/ litro de água. MARCOMINI (2009) desenvolveu estudos com o óleo de neem, onde testou concentrações crescentes verificando a mortalidade dos insetos (*Alphitobius diaperinus*). Utilizando a concentração de 0,1%, o óleo não apresentou poder

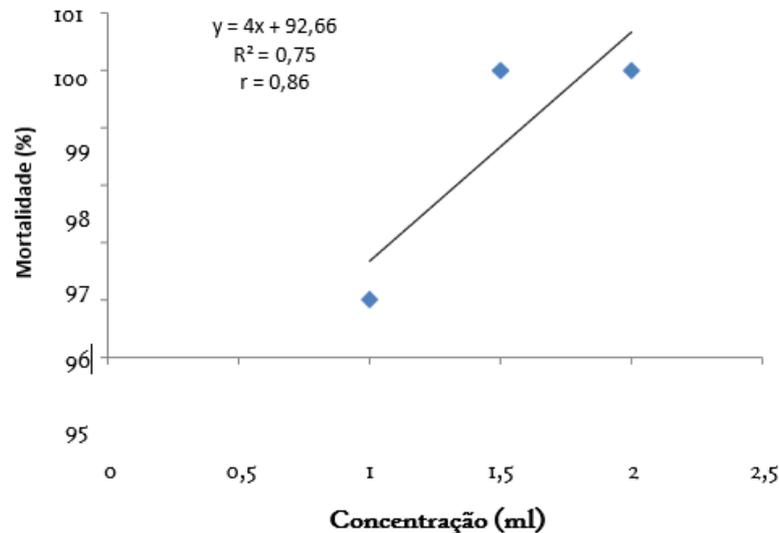
inseticida sobre *A. diaperinus*. Já, sob as concentrações de 1,5 e 10% houve, respectivamente 73,8 e 87,0% de mortalidade.



**Figura 5.** Ilustração gráfica da correlação entre a concentração do óleo essencial de *Azadirachta indica* e a mortalidade de larvas de *Anopheles spp*, após 24 horas de exposição ao tratamento.



**Figura 6 -** Ilustração gráfica da correlação entre a concentração do óleo essencial de *Ricinus communis L* e a mortalidade de larvas de *Anopheles spp*, após 24 horas de exposição ao tratamento.



**Figura 7** - Ilustração gráfica da correlação entre a concentração da acção conjunta de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* e a mortalidade de larvas de *Anopheles spp.*, após 24 horas de exposição ao tratamento.

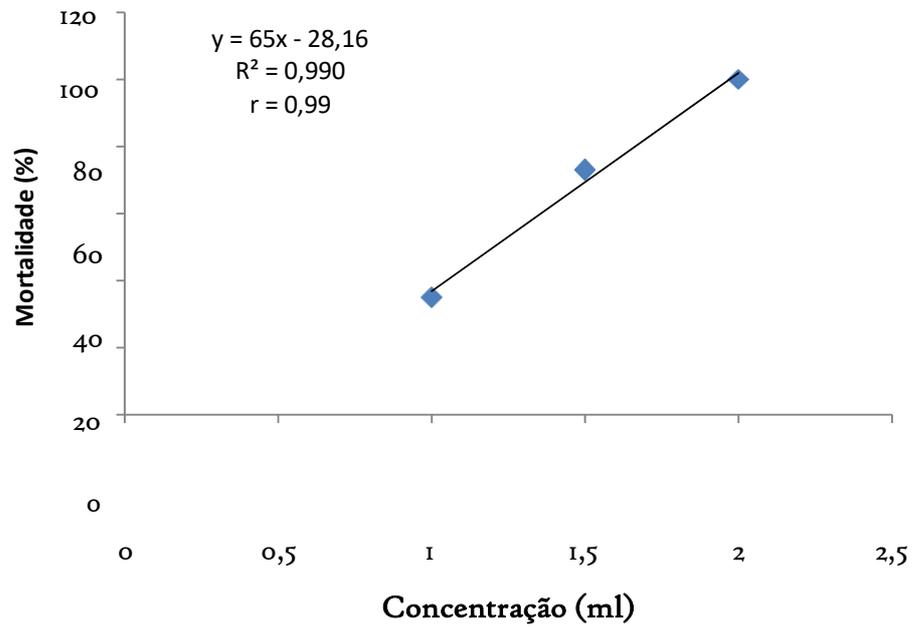
### 3.1 Inter – relação entre a concentração dos óleos essenciais e a mortalidade de larvas *Aedes spp.*

1265

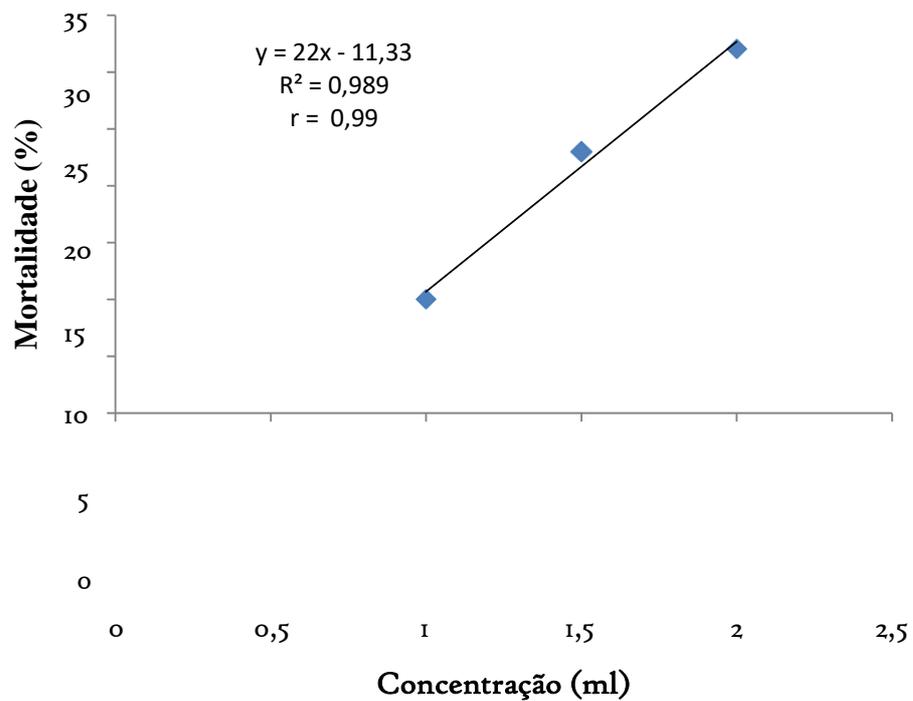
A análise de correlação entre a concentração dos óleos essenciais das espécies vegetais de *Azadirachta indica*, *Ricinus comunis* L e a acção conjunta e a mortalidade demonstra uma associação positiva forte ( $r = 0,9$ ) entre a variação da concentração dos óleos essenciais e a variação da mortalidade de larvas de *Aedes spp.* (Figuras 23-25). Os gráficos demonstram uma influência directa da variação da concentração dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L sobre a variação da percentagem de mortalidade de larvas de *Aedes spp.* durante 7 dias, e da acção conjunta dos óleos essenciais durante 4 dias.

As concentrações da acção conjunta dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L apresentaram-se com maior eficácia ocasionando mortalidade de 20, 36, 49% a partir do 3º dia nas concentrações de 1, 1,5 e 2 ml respectivamente. (Figura 25) enquanto para os óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* o efeito começou a partir do 7º dia, ocasionando mortalidade de 10, 23, e 32% para a primeira espécie (Figura 24), e 35, 73 e 100% para a segunda espécie nas mesmas concentrações descritas acima respectivamente (Figura 23).

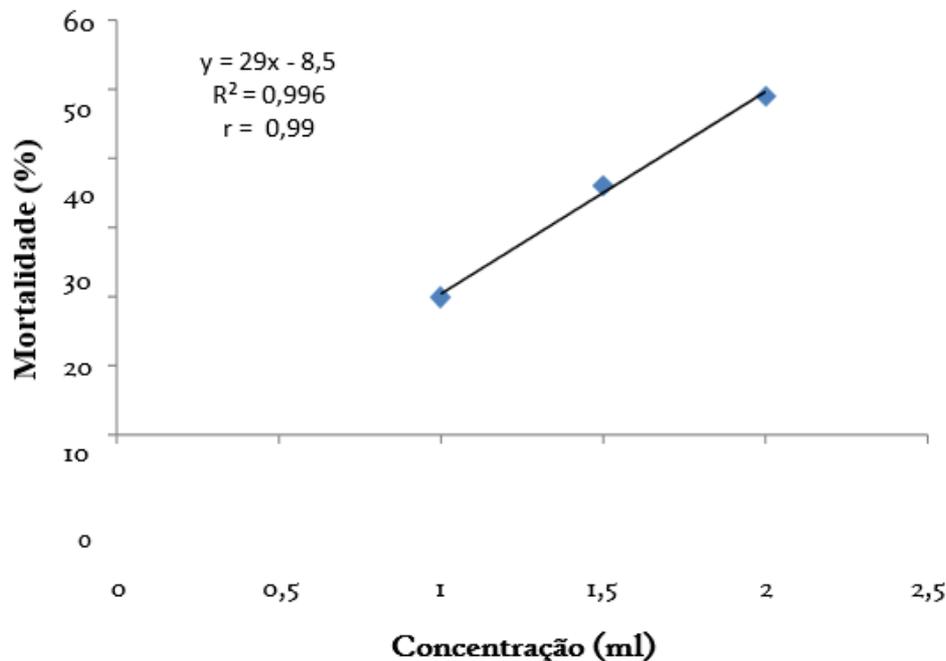
NDIONE *et al* (2007) em trabalho sobre os efeitos tóxicos dos produtos derivados do nim, como extrato oleoso e em pó, contra larvas de *A. aegypti*, observou que toda população larval exposta a mais alta concentração atingiu 100% de mortalidade nas primeiras 24 horas. Entretanto, a partir da mais baixa concentração (2 mg/l) foi possível atingir mortalidade de 50% da população.



**Figura 8** -Ilustração gráfica da correlação entre a concentração do óleo essencial de *Azadirachta indica* e a mortalidade de larvas de *Aedes spp*, após 7 dias de exposição ao tratamento.



**Figura 9** - Ilustração gráfica da correlação entre a concentração do óleo essencial de *Ricinus communis* L e a mortalidade de larvas de *Aedes spp*, após 7 dias de exposição ao tratamento.



**Figura 10** - Ilustração gráfica da correlação entre a concentração da acção conjunta de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indicae* a mortalidade de larvas de *Aedes spp*, após 4 dias de exposição ao tratamento.

#### 4.4 Período da actividade larvicida dos óleos essenciais sobre *Anopheles spp*.

O controlo do período da actividade foi fundamental para determinar a eficácia de cada óleo essencial durante o tempo. Descreveu-se o período de actividade das concentrações letais necessárias para matar 100% da população de larvas de *Anopheles spp* (947 ppm = 1ml de óleo).

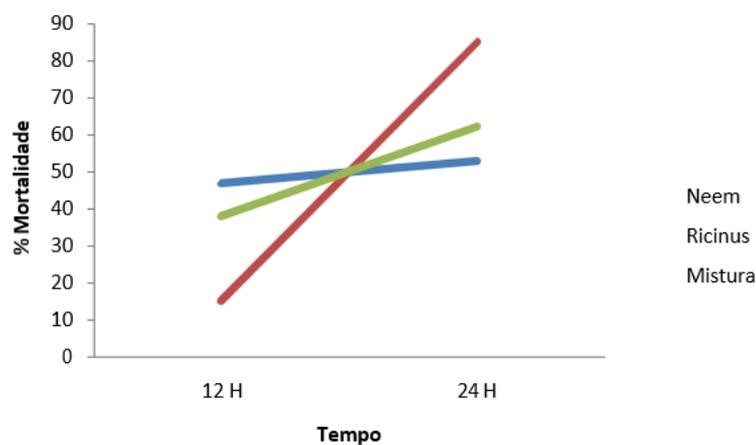
No controlo do período da actividade larvicida dos três óleos essenciais (*Azadirachta indica*, *Ricinus communis* L e a mistura) testados sobre *Anopheles spp* verificou-se mortalidade significativa logo a partir de 12 horas de aplicação. A análise de variância demonstrou existir diferenças significativas no modo de acção dos diferentes óleos testados ( $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{crítico}}$  e  $p \leq 0,05$ ).

O óleo essencial de *Azadirachta indica* e a mistura apresentaram maior eficácia e comportamento similar, sendo que em 12 horas causaram 48% e 38% respectivamente de mortalidade sobre larvas de *Anopheles spp*. Enquanto o óleo de *Ricinus communis* L mostrou-se menos eficaz com 15% de mortalidade nas primeiras 12 horas. Para os três boinsecticidas a mortalidade total surgiu após 12 horas totalizando 24 horas (Figura 26).

No entanto, os nossos resultados corroboram com AMER & MEHLHORN 2006. Os

autores avaliaram a potencialidade larvicida de 41 óleos essenciais, analisando esse efeito após 1, 12 e 24 horas. Mais de 48% destes óleos só agiram após 12 horas de exposição, ou seja, não durante as primeiras horas.

Em pesquisa realizada por DUA *et al* (2009), avaliando o efeito do extrato oleoso de nim, sob várias concentrações, contra larvas dos mosquitos *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*, apresentou mortalidade de aproximadamente 96% da população larval de todas as espécies de mosquito somente no primeiro dia de exposição, alcançando mortalidade total da população após sete dias de exposição.



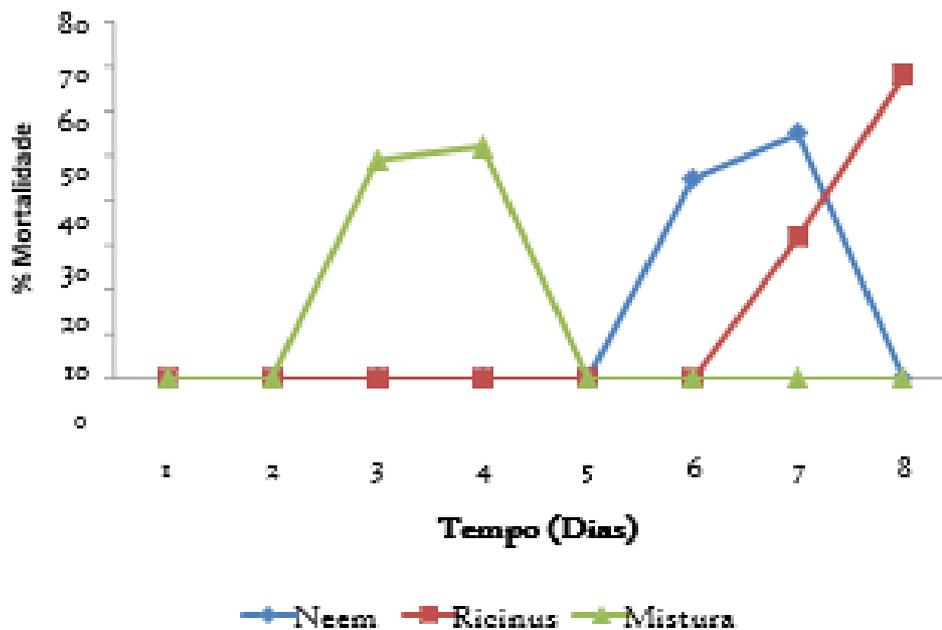
**Figura II** - Ilustração gráfica do período da actividade larvicida dos óleos essenciais *Ricinus communis* L, *Azadirachta indica* e mistura nas concentrações letais (CL 100) sobre larvas de *Anopheles spp* durante 12 e 24 horas de exposição ao produto.

#### 4.4.1 Período da actividade larvicida dos óleos essenciais sobre *Aedes spp*.

Na observação da actividade do período larvida sobre as larvas de *Aedes spp*, verificou-se maior eficácia da mistura de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* com a CL 100 de (947 ppm=1ml), ocasionando 49% e 51% de mortalidade das larvas no 3º e 4º dia respectivamente. Enquanto o maior tempo de mortalidade observou-se na acção do óleo de *Ricinus communis* L com a CL100 (2604 ppm), ocasionando 32% e 68% de mortalidade no 7º e 8º dia respectivamente. Quanto ao óleo de *Azadirachta indica* ocasionou mortalidade de 45% e 55% no 6º e 7º dias de exposição das larvas de *Aedes spp*, com a CL 100 de (2130 ppm) (Figura 27).

CASER *et al* (2007), analisando os efeitos do extrato aquoso proveniente de folhas secas de nim sobre larvas de *A. aegypti*, pode verificar que as concentrações mais altas tendem a produzir mais mortalidade nas larvas e, também, que a mortalidade é afetada pelo tempo de exposição ao extrato. Sendo assim, sua pesquisa obteve resultados satisfatórios a partir do segundo dia de exposição, apresentando mortalidade de aproximadamente 67% das larvas e alcançando 90% da mortalidade após o terceiro dia de exposição.

PERON 2012 O extrato aquoso de sementes de mamona mostrou-se eficiente no controle da lagarta do milho em todas as concentrações testadas, sendo mais eficiente na concentração de 75% onde após oito dias 75% das lagartas haviam morrido.



**Figura 12** - Ilustração gráfica do período da actividade larvicida dos óleos essenciais *Ricinus communis* L; *Azadirachta indica* e mistura nas concentrações letais (CL 100) sobre larvas de *Aedes spp* em 3 a 8 dias de exposição aos bioinsecticidas.

#### 4.5 Alterações comportamentais e morfológicas das larvas de *Anopheles spp* e *Aedes spp*.

Nossos resultados demonstram que em ambos os experimentos, as larvas apresentaram padrões de alterações comportamentais e morfológicas, os quais são descritos e ilustrados a seguir. As larvas-controle caracterizam-se por apresentarem aspecto vermiforme, alongado e coloração esbranquiçada. Sifão respiratório curto e tubular, com cerdas bem definidas na superfície do corpo, exibindo uma morfologia robusta e demarcada (Figura 28-29).

Nos primeiros momentos de contato das larvas com a solução contendo óleo de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L estas mantiveram-se activas semelhante ao estudo de ACIOLE, 2009. Entretanto, outras alterações comportamentais foram observadas posteriormente, as quais caracterizaram-se por movimentos natatórios serpentiformes acelerados, e posicionamento no fundo do recipiente com subidas repentinas na superfície.

Morfologicamente, as larvas expostas às CL100 CL95 dos óleos essenciais de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica* apresentaram alterações no tamanho do corpo (aspecto encolhido) e aspecto curvado, e escurecimento das partes posteriores e anteriores do corpo. Foi possível observar um alongamento da região entre a cabeça e o tórax, apresentando dificuldades de sustentação da região cefálica para locomoção (FIGURA 30-31).

Nosso parecer para as características morfológicas observadas é que possivelmente a ligeira separação entre o encéfalo e o tórax, deu-se devido a esta última região (proto-tórax) não ser recoberta por placas tergíticas ou exoesqueleto de quitina. O escurecimento das partes anteriores e posteriores das larvas deu-se pela tentativa de penetração do dos óleos essenciais sobre o exoesqueleto de quitina.

Apesar de não ser observado é possível que ocorresse também esticamento do corpo, nomeadamente no cérvix (conectivo das regiões cefálica e torácica) de acordo com (BARRETO *et al.* 2006), que também realizou uso de extrato botânico. Estes resultados são similares a ABED *et al.* (2007) onde os autores também investigaram as alterações morfológicas causadas por óleo essencial, embora tenha sido de *Copaifera reticulata* Ducke (Legumonosae) em larvas de *A. aegypti*.

BORGES *et al.* (2004), no entanto, investigaram a ação de reguladores de crescimento de insetos (IGR – Insect Grow Regulator) – o diflubenzuron – sobre larvas de *A. aegypti*. Este tipo de inseticida ocasiona alterações fisiológicas e morfológicas interferindo no ciclo larval, pois age na ecdise do inseto entre uma mudança e outra de fase e interrompendo o desenvolvimento e o crescimento ao invés da intoxicação direta (AWAD & MULLA, 1984).

Os autores submeteram as larvas a duas diferentes concentrações de diflubenzuron e estas apresentaram comportamentos e alterações morfológicas semelhantes aos descritos neste trabalho. Outros estudos desta natureza também têm sido realizados com outras espécies de mosquitos de interesse à Saúde Pública como *Anopheles gambiae* (KIHAMPA *et al.* 2009) utilizando reguladores de crescimento de insetos, como em *Anopheles stephensi* (SHARMA *et al.* 2006) utilizando o fitoextrato de *Artemisia annua* L. (Asteraceae), *Chenopodium album* L. (Amaranthaceae) e *Sonchus oleraceus* L (Asteraceae).

Percebe-se portanto, que tanto os produtos botânicos quanto os inseticidas reguladores do crescimento alteram consideravelmente a morfologia e a fisiologia das larvas.

1270

Provavelmente este comportamento letárgico deve-se a ação destas substâncias no sistema nervoso da larva, deixando-a incapaz de movimentar-se normalmente. O esticamento, encurtamento e/ou encurvamento do corpo pode ser causado por contrações musculares. Já o escurecimento das suas extremidades, possivelmente, é devido a sobreposição das cutículas dos segmentos abdominais como foi levantado por ABED *et al.* 2007.



**Figura 12** – Aspecto morfológico das larvas de *Anopheles spp* antes exposição dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L.



**Figura 13**– Aspecto morfológico das larvas de *Aedes spp* antes exposição dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L.



**Figura 14** – Aspecto morfológico das larvas de *Anopheles spp* após exposição dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L.



**Figura 15**– Aspecto morfológico das larvas de *Aedes spp* após exposição dos óleos essenciais de *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L.

## CONCLUSÃO

De acordo com a pesquisa realizada concluiu-se o seguinte:

- *Azadirachta indica* e *Ricinus communis* L possuem 100% de actividade insecticida contra larvas de *Anopheles spp* na concentração letal 904 ppm em 24 horas.
- *Azadirachta indica*, além de ocasionar a mortalidade das larvas de *Aedes spp* nas concentrações letais (CL<sub>100</sub> = 2130 ppm), também retarda o desenvolvimento da mesma espécie.
- *Ricinus communis* L ocasiona a mortalidade de 100% e 95% da população de *Aedes spp* nas concentrações letais de 2604 ppm e 1420 ppm respectivamente.
- A acção conjunta de *Ricinus communis* L e *Azadirachta indica*, ocasiona mortalidade de *Aedes spp* em menos tempo (4 dias), em relação a aplicação dos bioinsecticidas isoladamente (7 dias).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIOLE, S. (2009) **Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** FCUL – UFPR. Amazonas – Brazil
- ABED, R. A.; CAVASIN, G. M.; SILVA, H. H. G. DA; GERIS, R. & SILVA, I. G. (2007) **Alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeu, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pela atividade larvicida do óleo-resina da planta medicinal *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae).** Revista de Patologiam Tropical 36 (1): 75-86
- AMER A. & MEHLHORN H. (2006). **Larvicidal Effects of Various Essential Oils against *Aedes* , *Anopheles* and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae).** Parasitol. Res. 99: 466-472.
- AMER S.A.A & MOMEN F.M. (2005). **Effect of French lavender essential oil on some mites of the family Phytoseiidae (Acari:Phytoseiidae).**Acta Phytopatolgica et Entomologica Hungarica. 40: 409-415.
- AZEVEDO, D. M. P. & LIMA, E. F.O (2001)**Agronegócio da mamona no Brasil.**Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, (ed). 350p.
- ABDEL-SHAIFY, S.& ZAYED, A. A. (2002)**In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae).** Veterinary Parasitology, v. 106, n. 1, p. 89- 96.
- AMER S.A.A & MOMEN F.M. (2005). **Effect of French lavender essential oil on some mites of the family Phytoseiidae (Acari:Phytoseiidae).** Acta Phytopatolgica et Entomologica Hungarica.

40: 409-415.

AMER A.A & MEHLHORN H. (2006). **Larvicidal Effects of Various Essential Oils against Aedes, Anopheles and Culex larvae (Diptera, Culicidae)**. Parasitol. Res. 99: 466- 472.

BARRETO, C. F. (2005) **Aedes aegypti - resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle**. Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos 1 (2): 62-73.

BARRETO, C. F.; CAVASIN, G. M.; SILVA, H- H. G. DA & SILVA, I. (2006) **Estudo das alterações morfohistológicas em larvas de Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de Sapindus saponária Lin. (Sapindaceae)**. Revista de Patologia Tropical 35 (1): 37-57.

BORGES, R. A.; CAVASIN, G. M.; SILVA, I. G. DA; ARRUDA, W.; OLIVEIRA, E. S. F. DE; SILVA, H. H. G. DA. & MARTINS, F. (2004). **Mortalidade e alterações morfológicas provocadas pela ação inibidora de diflubenzuron na ecdise de larvas de Aedes aegypti (Diptera, Culicidae)**. Revista de Patologia Tropical 33 (1): 91-104.

CANDIDO, L. P. (2006). **Avaliação de Extratos Vegetais para o Controle de Aedes aegypti**. Monografia: UEP

CHANTRAINE J.M., LAURENT D., BALLIVIAN C., SAAVEDRA G., IBANEZ R. AND VILASECA L.A. (1998). **Insecticidal Activity of Essential Oils on Aedes aegypti Larvae**. Phytotherapy research. 12:350-354.

CONCEICAO, C., BARBOSA, A. & MEXIA, A.(2006)-**Meios de luta contra infestações de Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae) em milho armazenado**. In Moreira I.(Ed.)-Angola: Agricultura, Recursos Naturais e Desenvolvimento Rural, 36:197- 220

1273

CHANTRAINE J.M., LAURENT D., BALLIVIAN C., SAAVEDRA G., IBANEZ R. AND VILASECA L.A. (1998). **Insecticidal Activity of Essential Oils on Aedes aegypti Larvae**. Phytotherapy research. 12:350-354.

CORRÊA, ARLENE GONÇALVES; VIEIRA, PAULO CEZAR. (2001)**Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos, SP, v.3, 176 p.

CASER, C.R.S. *et al.* (2007) **Atividade Biológica das Folhas Secas de Neem, Azadirachta indica, sobre Larvas de Aedes aegypti**. Natureza On Line, v. 5, n. 1, p. 19-24.

DUA, V.K. *et al.* (2009) **Larvicidal Activity of Neem Oil (Azadirachta indica) Formulation Against Mosquitoes**. Malaria Journal, v. 8, p. 124, Índia. FAO, (2001)-**Maíz en los trópicos, El mejoramiento e production**.

MURDUE (LUNTZ), A.J. & BLACKWELL, (1993). **A. Azadirachtin: an update**. Journal of Insect Physiology, Oxford, v.39, n.11, p.903-924.

MACHADO, R. F. (2000). **A importância da prevenção, tratamento e erradicação do vírus da dengue, como instrumento da política de saúde pública no Brasil**. Educação e Tecnologia 5 (2): 13-20.

MATOS, O. *et al* (2008) **Importancia das plantas aromáticas medicinais nas novas estratégias de controlo de vectores da malária**. IHMT-UEM. Lisboa - Portugal

MARCOMINI, Angelina Maria. *et al.* (2009) **Atividade Inseticida de Extratos Vegetais e do Óleo**

**de Nim Sobre Adultos de Alphetobius Diaperinus Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae).** Arquivo do Instituto Biológico. São Paulo, v.76, n.3, p.409-416.

NEVES, R. (2014) **Efeito larvicida de Ricinus communis L.** Reget p. 127-131

NATHAN, S. S. *et al.* (2006) **Efficacy of Melia azedarach L. extract on the malarial vector Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae).** Bioresource Technology, v. 97, n. 11, p. 1316-1323.

NDIONE, R.D. *et al.* (2007) **Toxic Effects of Neem Products (Azadirachta indica A. Juss) on Aedes aegypti Linnaeus 1762 larvae.** African Journal of Biotechnology, v. 6, n. 24, p. 2846- 2854.

OLIVEIRA, *et al* (1994) **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** 1ª ed. Fundação Oswaldo Cruz. Brazil.

OKUMU, F. O.; KNOLS, B. G. J. & FILLINGER, U. (2007) **Larvicidal effects of a neem (Azadirachta indica) oil formulation on the malaria vector Anopheles gambiae.** Malaria Journal, v. 6, p. 63.

PETERSON C. & COATS J. (2001). **Insect Repellents-Past, Present and Future.** Pesticide Outlook. August, 154-158.

PERON, F. & FERREIRA, G. (2012) **Potencial inseticida de extrato de sementes demamona (Ricinus communis L.) no controle da lagarta-do-cartucho (Spodoptera frugiperda)** ISBN 978-85-8084-413-9.

PEREIRA, A.V. *et al.* (2006) **Estudo da atividade biológica de neem (Azadirachta indica) no combate ao mosquito Aedes aegypti: resultados preliminares.** Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC, Florianópolis..

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLO DA MALÁRIA. (2010). **Plano Nacional de Monitoria e Avaliação 2011 – 2015.** 1º Draft. Luanda: Ministério da Saúde.

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLO DA MALÁRIA (2011). **Inquerito de indicadores de malária em Angola 2011.** 1º Draft. Luanda: Ministério da Saúde.

QUIRINO, T. (2010) **Avaliação do potencial insecticida de uma solução de Nicotiana tabacum L (Solanaceae) sobre Aedes aegypt (Diptera: Culicidae).** Campina Grande – PB. Universidade Estadual de Paraíba. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

VIEIRA, P. C. & FERNANDES, J. B. (1999). **Em Farmacognosia: da Planta ao Medicamento;** 1ª ed., Ed. UFSC e UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre.

VIEGAS, J. (2003) **Terpenos com actividade insecticida: uma alternative para o controle químico de insectos.** Química nova. V-26 p. 390 – 400

VENDRAMIM, J.D. & SCAMPINI, P.J. (1997). **Efeito do extrato aquoso de Melia azedarach sobre o desenvolvimento de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) em dois genótipos de milho.** Rev. Agric., 72:158-170.

VAN TOL R.W.H.M., SWARTS H.J., VAN DER LINDEN A. & VISSER J.H. (2007). **Repellence of the red bud borer Resseliella oculiperda from grafted apple trees by impregnation of rubber budding strips with essential oils.** Pest Manag Sci .. 63 (5):483– 490.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1968). **Méthodes Statistiques Utilizables dans les Campagnes d'éradication du Paludisme.** Satra Swaroop. OMS. Genève. pp. 117-129

WORLD HEALTH ORGANIZATION(1996). **Report of the WHO Informal Consultation of the “Evaluation and Testing of Insecticides”**. WHO pesticide evaluation scheme (WHOPES). WORLD HEALTH ORGANIZATION, Division of Control of Tropical Diseases (CTD). 70 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2005). **Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito larvicides. Communicable Disease Control, Prevention and Eradication**. WHO Pesticide evaluation scheme. 39p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION(WHO) 1992. **Vector resistance to pesticides. Fifteenth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control**. 61p. Geneva

WHALON, M. E.; MOTA-SANCHEZ, D. & HOLLINGWORTH, R. M.(2008). **Global Pesticide Resistance in Arthropods**. Editora Cabi. 208 p.