

INVESTIGAÇÃO DE MECANISMOS DE AÇÃO LARVICIDA DE BIOATIVOS DA *DIZYGOSTEMON RIPARIUS* (PLANTAGINACEAE) FRENTE AO *Aedes Aegypti*

¹Laís de Sousa Rodrigues

²Joyce Marly de Freitas Mesquita

³Kiany Sirley Brandão Cavalcante

⁴Clenilma Marques Brandão

⁵Rogério de Mesquita Teles

RESUMO

O controle do *Aedes aegypti*, vetor de importantes arboviroses, enfrenta o desafio crescente da resistência larval aos inseticidas químicos sintéticos, como o Piriproxifeno. Este trabalho buscou investigar o potencial larvicida e os mecanismos de ação de bioativos da *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) como uma alternativa sustentável. A metodologia envolveu a obtenção do extrato bruto hidroalcoólico e do óleo essencial (O.E.) da planta, seguido por bioensaios contra larvas de *A. aegypti* de laboratório. Os resultados preliminares demonstraram 0% de mortalidade com o extrato hidroalcoólico em larvas de campo, evidenciando um provável perfil de resistência. Em contraste, larvas tratadas com o óleo essencial da *D. riparius*, foi possível observar mortalidade a partir de 400 µg/mL, (26% ± 11,4% em 24h e 28% ± 13% em 48h), mesmo sem mudanças morfológicas externas significativas, indicando que a toxicidade é progressiva e dependente da dose. A mortalidade eleva-se significativamente para 74% ± 8,9% (24h) e 80% ± 14,1% (48h) apenas na concentração de 500 µg/mL, momento em que se pode observar o surgimento das mudanças morfológicas características, como estreitamento do tórax, rigidez corporal e diminuição da motilidade, conforme observado em pesquisas anteriores.

Palavras-chave: extratos vegetais; óleo essencial; larvicidas naturais; resistência larval.

Financiamento: Referente ao Programa de Bolsas de Iniciação Científica Ensino Superior (PIBIC-ES) Edital n. 18/2024 e financiado pela FAPEMA.

1 Discente de Licenciatura em Química, Bolsista FAPEMA (Edital N°18/2024), IFMA - Campus São Luís Monte Castelo. E-mail: laisrodrigues@acad.ifma.edu.br

2 Discente de Licenciatura em Química, Voluntária, IFMA - Campus São Luís Monte Castelo. E-mail: mesquitaf@acad.ifma.edu.br

3 Prof.^a Dr.^a, Orientadora, Departamento Acadêmico de Química, IFMA - Campus São Luís Monte Castelo. E-mail: kiany@ifma.edu.br

4 Prof.^a M.^a, coorientadora, Departamento Acadêmico de Química, IFMA - Campus São Luís Monte Castelo. E-mail: clenilma.brandao@ifma.edu.br

5 Prof.^a Dr., coorientador, Departamento Acadêmico de Química, IFMA - Campus São Luís Monte Castelo. E-mail: rogerioteles@ifma.edu.br

INTRODUÇÃO

O controle do mosquito *A. aegypti* permanece como um dos principais desafios de saúde pública global e nacional, sendo o vetor primário das arboviroses como Dengue, Zika e Chikungunya (Carvalho & Moreira, 2017). Historicamente, a principal estratégia de controle baseou-se no uso de larvicidas químicos, como o organofosforado Temephos e o regulador de crescimento Piriproxifeno. Contudo, o uso massivo e contínuo dessas substâncias levou ao desenvolvimento de mecanismos de resistência nas populações de mosquitos, além de gerar preocupações ambientais e de saúde humana devido à sua persistência e toxicidade (Moyes et al., 2017).

Este panorama impulsiona a necessidade urgente de buscar soluções mais ecológicas, eficientes e de baixo impacto ambiental, destacando-se a pesquisa e o desenvolvimento de biolarvicidas oriundos de extratos vegetais. O estado do Maranhão, detentor de rica biodiversidade, apresenta espécies com potencial bioativo inexplorado. Dentre elas, a *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), planta nativa localmente conhecida, tem demonstrado em estudos preliminares possuir substâncias promissoras com atividade contra *A. aegypti* (Brandão et al., 2020). (Figura 1)

Figura 1: *Dizygostemon riparius*, planta encontrada do Maranhão.



Fonte: Scatigna (2019).

Este projeto teve como objetivo principal a investigação comparativa dos mecanismos de ação larvicida dos bioativos de *D. riparius* em relação aos inseticidas sintéticos. Os objetivos específicos delineados para atingir esta meta foram: realizar a

coleta, identificação botânica e obtenção do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial da *D. riparius*; realizar bioensaios larvicidas com extrato e óleo essencial da *D. riparius*, determinando o possível mecanismo neurotóxico; e, por fim, analisar microscopicamente as alterações morfológicas nas larvas expostas.

METODOLOGIA

A metodologia foi estruturada em três macroetapas: coleta e preparo do material, obtenção dos biocompostos e bioensaios larvicidas com avaliação do mecanismo de ação por meio da microscopia óptica.

O material vegetal (*D. riparius*, morfotipos de flores brancas e lilás) foi coletado em seu habitat natural, nas margens do Rio Preto, no município de São Benedito do Rio Preto, Maranhão. Após a coleta, o material foi separado, submetido à secagem em estufa com circulação de ar por um período de sete dias e, subsequentemente, triturado em moinho de facas. Parte do material foi destinada ao herbário para a devida identificação e registro.

O extrato bruto foi obtido através da técnica de maceração sólido-líquido. O material triturado foi submerso em solução de álcool etílico a 70% (v/v), mantido em repouso e agitação periódica por 72 horas. Após o período de extração, o solvente foi filtrado e concentrado em rotaevaporador a 40 °C sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato bruto para os bioensaios iniciais.

O óleo essencial foi extraído das folhas da *D. riparius* através da técnica de hidrodestilação, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado. A extração durou quatro horas a partir do início da ebulição. O O.E. obtido foi separado, seco com sulfato de sódio anidro e armazenado sob refrigeração até o momento dos ensaios.

Os bioensaios larvicidas foram realizados seguindo o protocolo adaptado da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2005). Larvas de *Aedes aegypti* no terceiro estágio larval (L3) foram utilizadas, provenientes da biofábrica MOSCAMED (cepa de laboratório, suscetível).

As larvas foram expostas a diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico (100 e 500 µg/mL) e do O.E. (em concentrações futuras). Cada tratamento foi conduzido em cinco réplicas, com 10 larvas por recipiente. A mortalidade foi avaliada após 24 e 48 horas de exposição. A avaliação morfológica das larvas sobreviventes e mortas foi realizada sob microscopia óptica trinocular, com aumento de 4x e 10x, software ImageView (software livre) para análise e tratamento das imagens e utilização de

estereoscópio ALLTION, com o objetivo de identificar possíveis alterações no tegumento, intestino ou no processo de ecdise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios larvicidas iniciais, utilizando o extrato bruto hidroalcoólico (na concentração de 500 µg/mL) foi aplicado sobre as larvas da biofábrica MOSCAMED (consideradas mais frágeis), foi observada uma mortalidade de 34% em 48 horas. Diante da baixa eficácia do extrato hidroalcoólico contra a população alvo de campo, optou-se por interromper a construção da curva de IC50 e prosseguir com a avaliação do óleo essencial da *D. riparius*, uma vez que extratos terpênicos e O.E. geralmente exibem uma ação neurotóxica mais rápida e potente.

Foi-se realizado testes utilizando o óleo essencial da *D. riparius* demonstrados na Tabela 1. A tabela exhibe o efeito larvicida do óleo essencial de *D. riparius* varia de acordo com a concentração aplicada.

Tabela 1. Ensaios Larvicidas do óleo essencial da espécie *D. riparius* frente ao *A. aegypti*.

Amostra	Concentração µg/mL	24h		48h	
		M ± DP	%M ± DP	M ± DP	%M ± DP
OeDr Emulsão _{folha}	100	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	200	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	300	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	400	2,6 ± 1,4	26,0 ± 11,4	2,8 ± 1,30	28,0 ± 13,0
	500	7,4 ± 0,8	74,0 ± 8,9	8,0 ± 1,4	80,0 ± 14,1
H ₂ O mineral ^B	-	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
PS80 ^{CN}	5	0,2 ± 0,4	2,0 ± 4,5	0,2 ± 0,4	2,0 ± 4,5
Temefós ^{CP}	100	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

M: valores médios de mortos; %M: valores médios de percentuais de mortalidade;
DP: desvio padrão; B: controle branco; CN: controle negativo; CP: controle positivo;
Réplicas: 5; n: 10 larvas no 3º estágio (Biofábrica MOSCAMED).

Nas concentrações de 100 a 300 µg/mL, não foram observadas mortalidade significativa das larvas (0%), sugerindo que essas concentrações são subletais e não causam danos agudos. A partir de 400 µg/mL, começa a ocorrer a mortalidade (26% ± 11,4% em 24h e 28% ± 13% em 48h), mesmo sem mudanças morfológicas externas significativas, indicando que a toxicidade é progressiva e dependente da dose. A

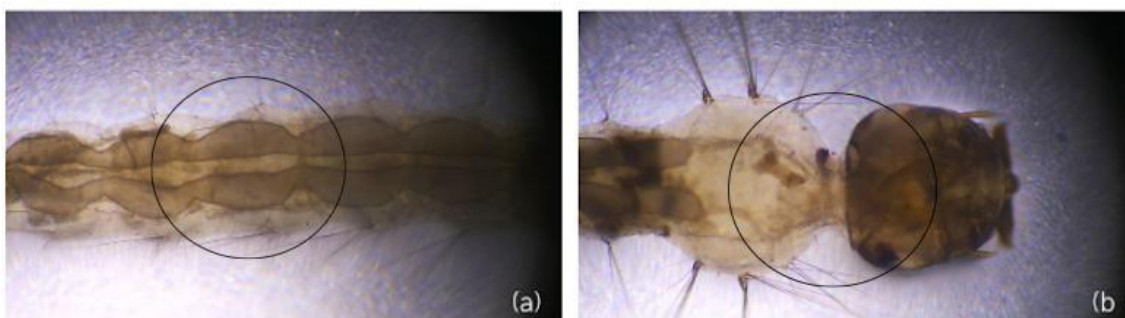
mortalidade eleva-se significativamente para $74\% \pm 8,9\%$ (24h) e $80\% \pm 14,1\%$ (48h) apenas na concentração de $500 \mu\text{g/mL}$, momento em que se pode observar o surgimento das mudanças morfológicas características, como estreitamento do tórax, rigidez corporal e diminuição da motilidade, conforme observado em pesquisas anteriores (PAVELA; BENELLI, 2016; WHO, 2005).

Os controles (água mineral e PS_{80}) não apresentaram mortalidade significativa, o que confirma que o veículo e o ambiente experimental não apresentam efeito larvicida sobre as larvas, indicando que o efeito se deve ao óleo essencial. Como era de se esperar, o temefós ($100 \mu\text{g/mL}$) demonstrou 100% de mortalidade em todas as réplicas.

A avaliação morfológica por microscopia óptica das larvas expostas ao extrato bruto não revelou alterações visíveis na estrutura externa, sugerindo que o mecanismo de ação, caso haja, não envolve uma ruptura morfológica evidente, como a inibição de ecdise, nos estágios e concentrações testados.

A exposição das larvas de *Aedes aegypti* ao óleo essencial de *D. riparius* na concentração de $400 \mu\text{g/mL}$ (Figura 2) levou ao início da mortalidade. Esse resultado indica que, nessa faixa de concentração, os compostos bioativos do óleo essencial são capazes de causar letalidade, provavelmente afetando sistemas fisiológicos internos, como o metabolismo celular ou sistema nervoso, sem causar danos estruturais visíveis na cápsula cefálica, tórax ou abdômen (PAVELA; BENELLI, 2016).

Figura 2. Perfil morfológico das larvas tratadas com Óleo essencial com concentração de $400 \mu\text{g/mL}$.

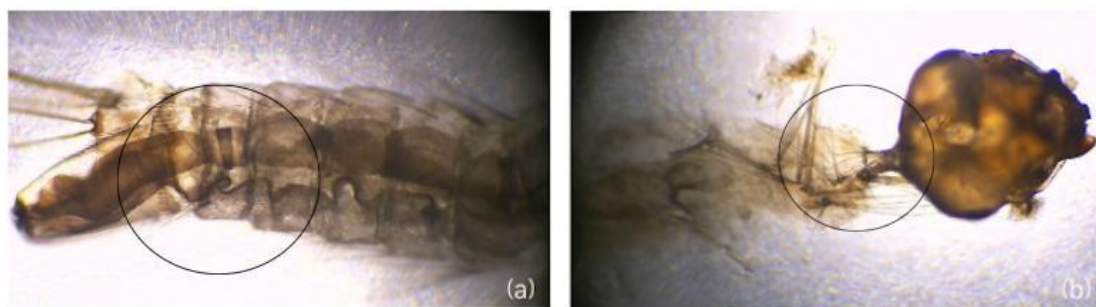


Fonte: Autoria própria (2025).

O que sugere que a toxicidade é progressiva e dependente da dose, tornando-se mais perceptível apenas em concentrações mais elevadas, como no caso de $500 \mu\text{g/mL}$ (Figura 3), quando se observam estreitamento do tórax, rigidez corporal e diminuição da

motilidade. Esse padrão destaca a necessidade de complementar a análise morfológica com testes de mortalidade quantitativa e estudos de CL_{50} para determinar o verdadeiro efeito larvicida do óleo essencial (WHO, 2005).

Figura 3. Perfil morfológico das larvas tratadas com Óleo essencial com concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$.



Fonte: Autoria própria (2025).

A determinação da concentração letal média (CL_{50}) é essencial para analisar a eficácia de compostos com propriedades larvicidas contra o *Aedes aegypti*. Valores de CL_{50} abaixo de 100 $\mu\text{g/mL}$ são considerados altamente ativos, de acordo com os critérios definidos pela Organização Mundial da Saúde, e têm grande potencial para a criação de formulações larvicidas. Concentrações de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas moderadamente ativas, ao passo que valores de 500 a 1000 $\mu\text{g/mL}$ demonstram baixa atividade larvicida. Por outro lado, substâncias com CL_{50} superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$ são normalmente consideradas inativas ou de pouca importância prática (WHO, 2005; PAVELA; BENELLI, 2016). Assim, produtos naturais com CL_{50} reduzida se mostram como opções promissoras para estratégias alternativas e sustentáveis de controle do vetor.

CONCLUSÕES

Os resultados preliminares demonstram que o extrato bruto hidroalcoólico de *D. riparius* não apresenta atividade larvicida significativa nas concentrações testadas contra larvas de *A. aegypti*. O efeito larvicida do óleo essencial de *D. riparius* varia de acordo com a concentração aplicada, mostrando atividade a partir das concentrações 400 e 500 $\mu\text{g/mL}$. A atividade observada em larvas de laboratório valida o potencial intrínseco da planta e justifica a necessidade de utilizar o óleo essencial para superar a resistência, mostrando boa atividade larvicida com óleo essencial. O estudo avança na busca por

biolarvicidas sustentáveis, com as próximas etapas focadas na determinação da CL50 e na crucial avaliação do mecanismo de ação neurotóxica através da inibição da enzima AchE.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC-ES, Edital Nº18/2024) e ao Instituto Federal do Maranhão (IFMA) - Campus São Luís Monte Castelo pelo apoio laboratorial e infraestrutura fornecidos. E ao Grupo Biomassa pelo apoio e incentivo nas atividades de pesquisa realizadas.

REFERÊNCIAS

- BRANDÃO, K. S. B. et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Dizygostemon riparius* against *Aedes albopictus*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 3060–3069, 2020.
- CARVALHO, A. A.; MOREIRA, D. A. Resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos no Brasil: uma revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 6, p. 770-781, 2017.
- ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- GODINHO, S. G. S. **Composição química e atividade larvicida contra *Aedes aegypti* dos extratos do morfotipo de flor branco da *Dizygostemon riparius***. 2024.
- MARTINS, V. T. et al. Chemical composition and larvicidal activity of crude extracts from *Dizygostemon riparius* against *Aedes aegypti*. **Journal of Natural Products Research**, 2023.
- MOYES, C. L. et al. Predicting the worldwide distribution of insecticide resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2017.
- SILVÉRIO, S. M. et al. Mecanismos de ação de produtos naturais vegetais no controle de mosquitos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, p. 574-586, 2020.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. Geneva: WHO, 2005.