

Dados do Plano de Trabalho	
Título do Plano de Trabalho:	Avaliação inseticida dos óleos essenciais de espécies de <i>Croton</i> sobre o <i>Aedes aegypti</i>
Modalidade de bolsa solicitada:	Apoio ao Empreendedorismo e à Inovação.
Projeto de Pesquisa vinculado:	Prospecção fitoquímica dos óleos essenciais de <i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm e <i>Croton campestris</i> A. St-hill e avaliação larvicida sobre o <i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae).

1. OBJETIVOS

GERAL

Verificar a potencialidade inseticida *in vitro* dos óleos essenciais de *Croton zehntneri* e *Croton campestris* sobre larvas do *Aedes aegypti* em condições de laboratório.

ESPECÍFICOS

- Obter os óleos essenciais de *C. zehntneri* e *C. campestris*;
- Avaliar o potencial larvicida dos óleos em diferentes concentrações sobre as larvas do mosquito *Aedes aegypti*;
- Verificar a influência da temperatura sobre a ação larvicida do óleo;
- Fazer a caracterização fitoquímica do óleo larvicida;
- Obter produtos naturais de origem vegetal para ser comercializado na região;
- Controlar esse vetor de forma ecologicamente correta.

2. METODOLOGIA

Para coletar os ovos serão instaladas, aproximadamente, 50 armadilhas artesanais (ovitrampas) em pontos estratégicos, ou seja, aqueles com transmissão de dengue conhecida e presença de focos do vetor. A ovitrampa é composta por um pequeno vaso escuro para atração da fêmea do vetor, no qual é introduzido cerca de 300 mL de água, misturada a um extrato aquoso de feno preparado através da sua fermentação a 10% durante sete dias para atração das fêmeas e uma palheta de madeira prensada (tipo Eucatex), com dimensões de 3x11 cm de textura porosa para a fixação dos ovos, inserida na posição vertical da parede do vaso.

As armadilhas permanecerão instaladas nas residências nos bairros do Lameiro, Seminário, Vila Alta e Centro da cidade de Crato, por um período de cinco dias, depois do qual as palhetas serão recolhidas e levadas ao laboratório de Entomologia Agrícola da UFCA no Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, no Crato, onde, com o auxílio de lupa estereoscópica, será realizada a contagem dos ovos do inseto para obtenção das larvas.

Para a obtenção das larvas, as palhetas contendo os ovos coletados serão colocados em béqueres com capacidade de 2.000 mL. Em seguida, será adicionado água e os béqueres levados para uma câmara climatizada do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) em condições controladas de temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade

relativa do ar de 70±10% e fotofase de 12 horas. Após a eclosão das larvas, as palhetas serão retiradas e as mesmas mantidas nessas condições e alimentadas com ração de peixe até atingirem o terceiro instar.

As folhas dos Croton serão coletadas no mês de agosto de 2019 no município de Crato e as exsiccatas das plantas coletadas serão encaminhadas ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL do departamento de ciências biológicas (URCA) para obtenção dos números de registro.

Todos os materiais vegetais serão armazenados em sacos de cor escura e levados para o Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri – URCA, município de Crato – CE. Para obter melhor rendimento dos óleos, o material vegetal será triturado em pequenos pedaços com o auxílio de tesouras de poda. Os óleos essenciais serão extraídos pelo método de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado conforme metodologia descrita por GOTTLIEB (1960). Serão pesados 500 g de cada material vegetal triturado e colocados submersos em 2.500 mL de água destilada em um balão de fundo chato com capacidade para 5.000 mL, estabelecendo um período de extração de 120 minutos.

Após o período de extração, os óleos essenciais serão retirados do aparelho com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, secos com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e armazenados (-4° C) em *eppendorf* cobertos com papel alumínio em refrigerador doméstico até o momento das análises. O rendimento dos óleos essenciais serão calculados com base nos volumes de óleos obtidos e dos pesos dos materiais vegetais frescos.

As pesquisas serão conduzidas no Laboratório de Entomologia Agrícola da Universidade Federal do Cariri, no Crato-CE, em condições controladas de temperatura (25 ± 1°C), umidade relativa (70 ± 10%) e fotofase de 12 horas em uma câmara climatizada tipo B.O.D., durante o período de agosto de 2019 a julho de 2020.

Para determinar o melhor óleo, o bioensaio será realizado no Laboratório de Entomologia Agrícola da UFCA. Para isso, cada óleo essencial será diluído para uma concentração de 100 ppm. Será pesado 10 mg de cada óleo essencial em balança analítica (0,0001), adicionando-se 98 mL de água destilada e 2 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO). A solução será colocada em um balão volumétrico (200 mL) e agitada manualmente até obter-se uma solução homogênea.

Para cada tratamento serão utilizadas dez larvas e estas serão retiradas do béquer onde estavam acondicionadas com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, retirado o excesso de água e colocadas em copos de polietileno com capacidade de 50 mL. Logo em seguida, com o auxílio de uma pipeta volumétrica será colocado 25 mL da solução em cada copo que continha as larvas. Após 24, 48 e 72h de exposição das larvas aos tratamentos, o número de larvas mortas será registrado sendo consideradas mortas aquelas que não apresentavam movimento ou não respondiam aos estímulos com a pipeta de Pasteur.

A eficiência de mortalidade das larvas será determinada em porcentagem por meio da equação de ABBOTT (1925).

$$E (\%) = \frac{Nc - Nt}{Nc} \times 100$$

Em que: = Eficiência; Nc = Número de indivíduos vivos no tratamento controle; Nt = Número de indivíduos vivos nos tratamentos.

O delineamento estatístico adotado será o inteiramente casualizado (DIC) com

quatro tratamentos correspondendo aos óleos essenciais das espécies utilizadas (*C. zehntneri* e *C. campestris*), água destilada mais DMSO (testemunha negativa) e piriproxifeno (testemunha positiva) a 0,001g/L, com quatro repetições, com 10 larvas cada, totalizando 16 unidades experimentais.

Após a obtenção do melhor óleo das plantas no controle do *A. aegypti*, serão avaliadas, em seguida, diferentes concentrações desses óleos nas dosagens de 1, 5, 10, 20 e 50 mL da solução submetida no mesmo delineamento estatístico e metodologia de avaliação do vetor do experimento anterior.

A melhor concentração obtida dos óleos das plantas serão submetidos às temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C no mesmo delineamento estatístico e metodologia de avaliação do vetor do experimento anterior.

Os dados obtidos nos biotestes serão submetidos à análise de variância (ANOVA) e as suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o Programa Operacional SISVAR-UFLA (FERREIRA, 2011). A concentração efetiva para eliminar 50% dos insetos (CL₅₀) será calculada pelo método de Probite.

3. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES DO BOLSISTA

ATIVIDADES	MESES											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Obtenção dos ovos do <i>Aedes aegypti</i> .	X	X	X	X	X	X	X	X				
Coleta do material vegetal e extração dos óleos essenciais	X	X										
Realização dos bioensaios			X	X	X	X	X	X	X			
Elaboração e envio do relatório final.										X	X	X
Elaboração de artigos científicos dos dados prospectados.												X