



Ramão Luciano Nogueira Hayd
Luiz Guilherme S. da R. Bauzer
Herintha Coeto Neitzke-Abreu
Eduardo José de Arruda
Organizadores

Reprodução, comportamento, resistência a inseticidas e controle populacional



UFPA
editora

ANEXO

Reprodução, comportamento, resistência a inseticidas e controle populacional

2026

Ramão Luciano Nogueira Hayd
Luiz Guilherme S. da R. Bauzer
Herintha Coeto Neitzke-Abreu
Eduardo José de Arruda
Organizadores



Equipe EdUFGD**Coordenação editorial:**

Marise Massen Frainer

Divisão administrativa:

Rafael Todescato Cavalheiro

Thais Gomes de Souza

Divisão de editoração:

Brainner de Castro Lacerda

Cynara Almeida Amaral Piruk

Maurício Lavarda do Nascimento

e-mail: editora@ufgd.edu.br

A presente obra foi aprovada de acordo
com o Edital n. 04/2023-EDUFGD.

Editora filiada à:

**Gestão 2022-2026****Universidade Federal da Grande Dourados****Reitor:**

Jones Dari Goettert

Vice-Reitora:

Cláudia Gonçalves de Lima

Conselho editorial:

Marise Massen Frainer

Cláudia Gonçalves de Lima

Fernando Perli

Eliane Souza de Carvalho

Maria Aparecida Farias de Souza Nogueira

Emília Alonso Balthazar

Morgana de Fátima Agostini Martins

Alzira Menegat (suplente)

Revisão:

Cynara Almeida Amaral Piruk

Thais Gomes de Souza

Projeto gráfico, diagramação e capa:

Brainner de Castro Lacerda

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

6104**H414**

Aedes aegypti: reprodução, comportamento, resistência a inseticidas & controle populacional [e-book]. / Ramão Luciano Nogueira Hayd, Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer, Herintha Coeto Neitzke Abreu. Eduardo José de Arruda (organizadores). – Dourados, MS : EDUFGD, 2026.
232 p. : il.

ISBN: 978-85-8147-253-9

1. Vetor. 2. Dengue. 3. Culicídeos. I. Hayd, Ramão Luciano Nogueira. II. Bauzer, Guilherme Soares da Rocha. III. Abreu, Herintha Coeto Neitzke. IV. Arruda, Eduardo José de. V. Título.

SUMÁRIO

Apresentação - pág. 05

Prefácio - pág. 07

Capítulo 1 | *Aedes aegypti*: principal vetor das arboviroses urbanas no Brasil
Pág. 11

Capítulo 2 | Aspecto da biologia das formas imaturas do *Aedes* spp.: Ovos
Pág. 45

Capítulo 3 | Produtos e estratégias de controle populacional de insetos vetores
Pág. 69

Capítulo 4 | Resistência do *Aedes aegypti* a inseticidas
Pág. 89

Capítulo 5 | Potencial de óleos de palmeiras nativas da Amazônia brasileira, e desenvolvimento de tecnologias sociais no controle de *Aedes aegypti*
Pág. 121

Capítulo 6 | O relógio circadiano de *Aedes aegypti*
Pág. 147

Capítulo 7 | Resíduos agroindustriais: atividade inseticida de fenóis lipídicos (LCCT)
Pág. 181

Sobre os autores - pág. 223

APRESENTAÇÃO

A ideia para elaboração desta obra partiu da necessidade de disponibilizar conhecimento científico e tecnológico em produtos para o controle do *Aedes aegypti*, estratégias de controle e novos produtos para o controle populacional. Há décadas o seu controle tem sido difícil e suas estratégias de superação e comportamento reduzem a eficácia do controle. E, há muito sabemos que este vetor é o principal transmissor das arboviroses urbanas, competente para transmitir inúmeras doenças e potencial para novas doenças como inseto vetor.

Desta forma, buscamos levar esse conhecimento aos leitores abordando a biologia do vetor e saberes relacionados às fases de vida do *Ae. aegypti* e o entendimento para a aplicação do conhecimento em produtos e estratégias de controle populacional.

Conhecer a composição e características do ovo é imprescindível para traçar uma estratégia eficiente no monitoramento e controle de populações deste vetor.

O monitoramento e o controle da resistência a inseticidas em *Ae. aegypti* também se tornou um fator significativo para subsidiar as esferas de governo na tomada de decisões para o enfrentamento a este vetor.

Sabemos que essas arboviroses são prevalentes no Brasil, e a mortalidade causada pela dengue ainda é um desafio para a saúde pública e conhecer o vetor e seus aspectos biológicos se torna relevante nas medidas de controle. Não temos a pretensão de esgotar o assunto, mas de despertar uma nova perspectiva a partir das experiências vivenciadas na forma multidisciplinar e o uso das diferentes perspectivas compartilhadas para o despertar ou a crítica dos pesquisadores. A ideia principal é a partir do conhecimento disponibilizada na literatura utilizar recursos e conhecimentos disponíveis para produtos e/ou estratégias de controle populacional do *Ae. aegypti*. Os produtos convencionais e não convencionais podem ser utilizados, potencializados e/ou até combinados para o controle do inseto vetor.

Prof. Dr. Eduardo José de Arruda
Universidade Federal da Grande Dourados

PREFÁCIO

O *Aedes aegypti*, um pequeno mosquito com um impacto gigantesco, tem desafiado cientistas e profissionais de saúde pública ao longo das últimas décadas. Os patógenos que ele transmite — como os vírus da dengue, Zika e Chikungunya — têm causado sérios problemas de saúde pública em diversas regiões do mundo, especialmente em áreas tropicais e subtropicais. Neste livro, convidamos o leitor a mergulhar no complexo mundo deste vetor, explorando sua biologia, comportamento, e as diversas estratégias que têm sido desenvolvidas para controlá-lo.

No primeiro capítulo, abordamos o ciclo de vida do *Ae. aegypti* e as doenças que ele causa ao transmitir patógenos. Compreender o ciclo de vida deste mosquito é crucial para identificar os pontos críticos de intervenção. Discutimos também o impacto das doenças associadas a este vetor, ressaltando a importância de esforços contínuos para seu controle.

No segundo capítulo, focamos nas formas imaturas do *Ae. aegypti*. Os ovos representam um estágio crítico para o controle populacional, e entender sua biologia pode fornecer insights valiosos para estratégias de intervenção.

O terceiro capítulo discute os produtos inseticidas e estratégias de controle populacional do *Ae. aegypti* a partir do estágio mais resistente, i.e ovos. Abordamos desde métodos tradicionais até inovações tecnológicas, avaliando a eficácia e viabilidade das diferentes formas. Discutimos as estratégias mais eficientes, quer sejam físico-químicas ou biológicas, a serem propostas no controle populacional.

No quarto capítulo, exploramos a resistência e resiliência do *Ae. aegypti* a inseticidas. A resistência a inseticidas é um dos maiores desafios no controle deste vetor, e entender os mecanismos por trás deste fenômeno é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias.

O quinto capítulo destaca o potencial dos óleos de palmeiras nativas da Amazônia brasileira e o desenvolvimento de tecnologias sociais no controle do *Ae. aegypti*. A utilização de recursos naturais e o envolvimento da comunidade local podem ser estratégias promissoras e sustentáveis no combate a este mosquito.

No sexto capítulo, discutimos o relógio circadiano do *Ae. aegypti*. Entender os ritmos biológicos do mosquito pode, entre muitas abordagens, ajudar a identificar os melhores momentos para aplicar medidas de controle, aumentando sua eficácia.

Por fim, no sétimo capítulo, investigamos a atividade inseticida de fenóis lipídicos em *Ae. aegypti*. Os fenóis lipídicos apresentam um potencial significativo como agentes de controle, e suas propriedades são exploradas detalhadamente.

Este livro é fruto de um esforço colaborativo entre pesquisadores de diversas áreas, que representam instituições de vários estados brasileiros, unidos pelo objetivo comum de combater o *Ae. aegypti* e reduzir o impacto das doenças que ele transmite. Esperamos que esta obra não só amplie o conhecimento sobre este vetor, mas também inspire novas abordagens e soluções para o seu controle. A ciência avança através da colaboração e do compartilhamento de conhecimento, e é com esse espírito que apresentamos este trabalho aos leitores.

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer
Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)
Instituto de Biologia do Exército (IBEx)





Voltar ao Sumário

CAPÍTULO 1

***Aedes Aegypti*: PRINCIPAL VETOR DAS ARBOVIROSES URBANAS NO BRASIL**

Eduardo José de Arruda

Ramão Luciano Nogueira Hayd

Herintha Coeto Neitzke-Abreu

Raquel da Silva Vieira

Paulo Silva de Almeida

Luiz Donizethe Minzão

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Antonio Pancrácio de Souza

Conhecendo o vetor

Os mosquitos do gênero *Aedes*, da ordem Díptera, família *Culicidae*, tribo *Aedini*, compreendem mais de 900 espécies, distribuídas em 44 subgêneros, dos quais apenas nove foram encontrados nas Américas. A espécie *Aedes aegypti* (Linnaeus) pertence ao subgênero *Stegomyia*, que compreende principalmente espécies afrotropicais, paleárticas e orientais. A chegada às Américas ocorreu passivamente, com o desenvolvimento do sistema de transporte humano (Forattini, 2002). A família *Culicidae* é composta por quase 3.600 espécies de mosquitos, distribuídas em 41 gêneros, dos quais pelo menos quatro são de grande importância médica: *Anopheles*, *Culex*, *Aedes* e *Haemagogus* (Rodrigues dos Campos, 2021).

O *Ae. aegypti* é um mosquito diurno, de coloração preta, com listras brancas nas pernas e no corpo (Taveira; Fontes; Natal, 2001). Mede entre 0,5 e 1 cm de comprimento. Esta espécie foi descrita cientificamente em 1762 como *Culex aegypti*. "*Culex*" significa "mosquito" e "*aegypti*" significa "egípcio", então: "mosquito egípcio". Ela se originou no Egito, país localizado na região do Oriente Médio do continente africano. Porém, em 1818, observou-se que o mosquito apresentava características morfológicas e biológicas semelhantes às espécies do gênero *Aedes*, e assim foi estabelecido seu nome definitivo *Aedes aegypti*, do grego "*Aedes*", que significa "odioso" ou "desagradável", e do latim "*aegypti*", que significa "do Egito".

Ae. aegypti acompanhou o homem durante sua incessante migração pelo mundo e se manteve nas regiões que favoreceram sua proliferação, graças às alterações antrópicas e à rápida adaptabilidade às condições ambientais (Consoli; Oliveira 1994). Originário da região etiópica, o mosquito se dispersou para áreas onde a atividade antrópica e o clima favoreceram sua proliferação e, atualmente, pode ser encontrado em regiões tropicais e subtropicais do globo (Natal, 2002). Tem, portanto, uma ampla distribuição geográfica pelo mundo, sendo encontrado entre as latitudes 45° Norte e 45° Sul, em todos os continentes, exceto na Antártida e nos países com clima predominantemente frio, como Rússia e Canadá (Forattini, 2002). Acredita-

-se que o *Ae. aegypti* tenha sido introduzido no Brasil colonial através dos porões do tráfico negreiro. Devido à sua magnitude como vetor da febre amarela urbana, o mosquito foi combatido em solo brasileiro até 1955, quando foi considerado erradicado. Porém, países sul-americanos vizinhos não tiveram o mesmo cuidado, o que colaborou com a reinfestação do *Aedes* no Brasil (Consoli; Oliveira, 1994; Gluber; Clark, 1995). Embora o *Ae. aegypti* tenha sido erradicado duas vezes do Brasil, denota-se fragilidade no programa de vigilância em controle das arboviroses, culminando com a reinfestação e aumento populacional do vetor em todo o país. Atualmente, está presente em todos os estados do Brasil e no Distrito Federal, sendo distribuído em cerca de 4500 municípios brasileiros (Braga; Valle, 2007; Consoli; Oliveira, 1994; Zara *et al.*, 2016).

Ao longo de sua trajetória evolutiva, o *Ae. aegypti* vem sendo considerado a espécie de mosquito mais associada à presença humana entre os *culicídeos*, devido ao seu comportamento sinantrópico e antropofílico (Natal, 2002). É, portanto, considerado o inseto vetor mais dependente e adaptado ao ambiente urbano, pois vive com facilidade aos ambientes humanos, encontrando condições favoráveis para se desenvolver, como abundância de criadouros, escassez de predadores e grande oferta de repasto sanguíneo (Consoli; Oliveira, 1994). Esta espécie se adaptou ao ambiente domiciliar e peridomiciliar, e sua convivência com o homem é favorecida pela utilização de recipientes artificiais para o desenvolvimento de suas formas imaturas, condição que a torna predominantemente urbana (Câmara *et al.*, 2007).

A precariedade das condições de habitação e de saneamento básico, o abastecimento e a coleta irregulares de água e de dejetos, e o armazenamento de água para consumo em tonéis são condições que favorecem o desenvolvimento do ciclo de vida do *Ae. aegypti*, contribuindo para sua multiplicação e transmissão viral. O crescimento da indústria moderna, como a produção de embalagens descartáveis (plásticos, alumínio, vidros ou isopor), assim como a ascensão da indústria automotiva, tem auxiliado na multiplicação e dispersão deste vetor, principalmente quando esses materiais não são descartados de maneira adequada no meio ambiente. Os pneus, por exemplo, com o

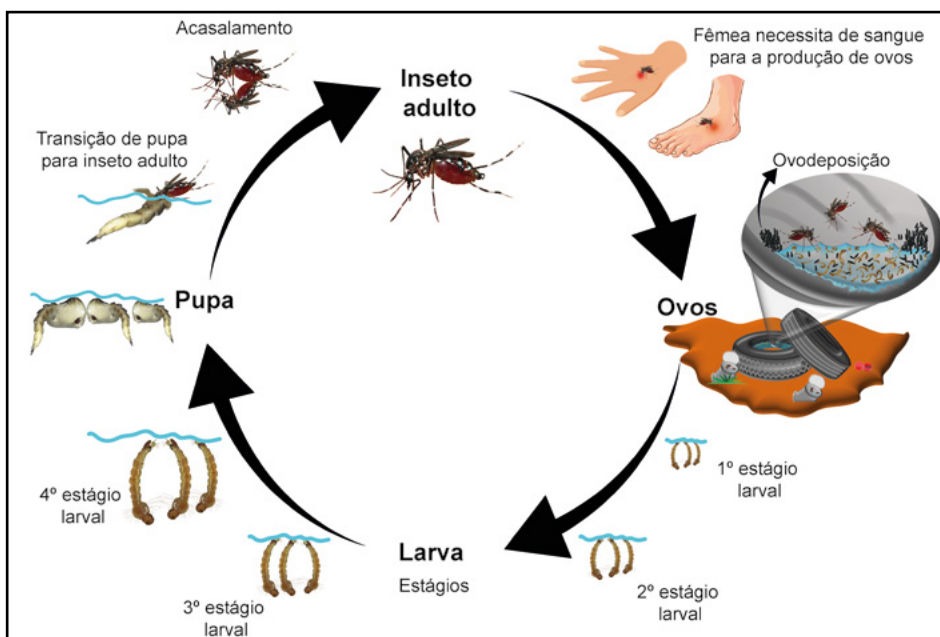
aumento do descarte inadequado no meio ambiente, tornam-se um dos recipientes prioritários para a oviposição deste mosquito, favorecendo o desenvolvimento do seu ciclo biológico e sua dispersão. O desmatamento, o aquecimento global e a urbanização desorganizada também têm favorecido o aumento da população de *Ae. aegypti* em locais com atividade humana (Taul, 2002; Borges, 2018; Soares, 2018). Estudos mostraram que os maiores índices de infestação do *Ae. aegypti* são registrados em áreas de habitação com infraestrutura sanitária inadequada e coleta de lixo deficiente, normalmente em bairros com alta densidade populacional, baixa cobertura vegetal e acúmulo de lixo urbano (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017; Valle et al., 2019).

O ciclo de vida do *Aedes aegypti*

O *Ae. aegypti* é um mosquito que apresenta duas fases distintas em seu ciclo de vida, uma aquática compreendendo o ovo (quiescência onde todas as atividades metabólicas são interrompidas e a continuidade é dada após o contato com a água, e eclosão da larva), larvas (L1, L2, L3 e L4) e pupa e a outra terrestre, que compreende a fase adulta. Na **Figura 1** mostra-se esquematicamente o processo de reprodução do mosquito *Aedes* spp. Estas fases distintas conferem ao indivíduo uma adaptabilidade a qualquer ambiente urbano, ganhando espaço até mesmo em condições desfavoráveis quanto ao uso de inseticidas (Hayd et al., 2020).

Estudos realizados pelo grupo de pesquisa em laboratório mostraram que a hidratação dos ovos e emergência são etapas rápidas. A duração da fase larval de dez dias com uma média de dois dias entre os instares larvais e pupa até a emergência do inseto adulto. A emergência do inseto adulto (alado) ocorreu em até quatro dias após o estágio de pupa. Nos estudos de Beserra e Castro Jr. (2008), a fase de pupa demorou em média três dias.

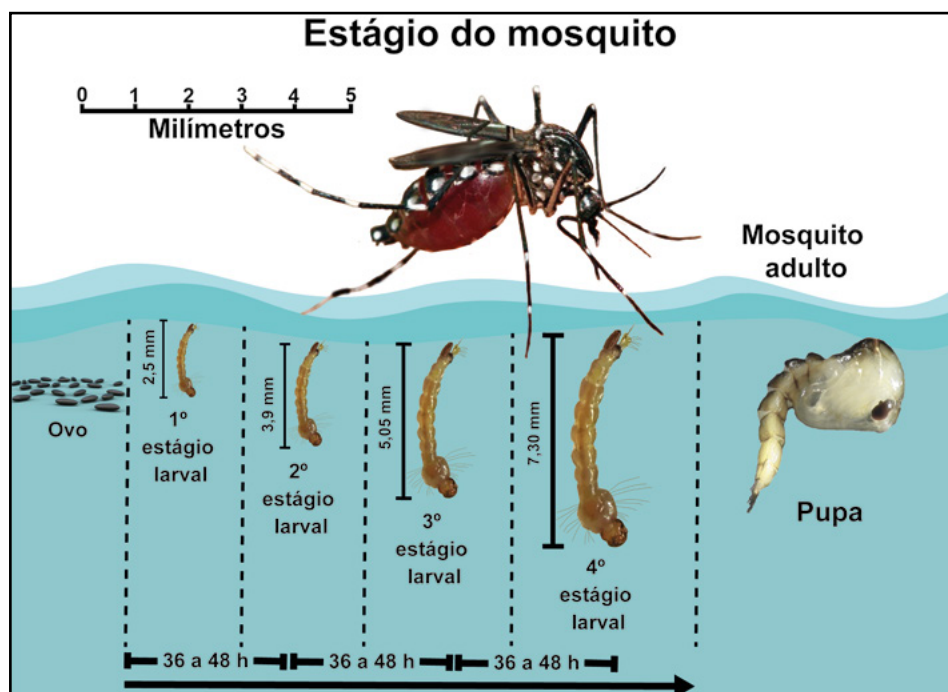
Figura 1 - Ciclo reprodutivo e detalhes de hábitos e comportamentos do *Aedes aegypti*.



Fonte: Raphael Antônio Borges Gomes, Laboratório de Bromatologia, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto.

Os tamanhos dessas fases são aproximadamente: ovos ($\approx 1,0$ mm), L1 ($\approx 2,5$ mm), L2 ($\approx 3,9$ mm), L3 ($\approx 5,0$ mm), L4 ($\approx 7,3$ mm), pupa ($\approx 3-4$ mm) e inseto adulto (alada) ($\approx 3-6$ mm) (Becker *et al.*, 2003; Fio-cruz, 2009) (**Figura 2**).

Figura 2 - Tamanhos aproximados dos diferentes estágios e estádios do *Aedes aegypti*.



Fonte: Adaptado de CDC, 2020.

Com relação aos ovos, as fêmeas fazem a postura individualmente nas paredes internas de coleções de água e costumam depositar seus ovos em mais de um criadouro, fenômeno chamado de oviposição em saltos, garantindo maiores chances de proliferação de sua prole. Após completo desenvolvimento embrionário, que dura cerca de dois ou três dias, os ovos podem permanecer secos por meses, até que o criadouro seja novamente alagado e os ovos eclodem, iniciando o ciclo (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002). O ovo é a fase do processo reprodutivo com maior resistência ao estresse ambiental no ciclo de vida do mosquito, desempenhando um papel importante na sua dispersão e sobrevivência da espécie. Implicitamente, possui toda a carga genética que pode diferenciar populações do mosquito. A estratégia de sobrevivência dessa espécie é baseada no desenvolvimento de ovos resistentes a mudanças de ambiente, inclusive ambientes que

não seriam favoráveis a outros tipos de ovos, como os do *Culex* (pernilongo comum), que necessitam estar dentro da água (Abram *et al.*, 2015). O ovo é o estágio de vida menos conhecido e possível de entendê-lo, mas pode ser foco de controle e contribuir para planejamento de novas estratégias de controle do mosquito. Os mosquitos depositam ovos em diferentes maneiras nos criadouros com água. Durante a embriogênese, a cutícula serosa é produzida, ela envolve o embrião e contribui para a proteção do ovo, permitindo que ele sobreviva fora d'água (Hinton, 1981).

Os ovos de *Aedes* podem sobreviver fora da água por períodos longos, intermediários e curtos, respectivamente (Consoli; Oliveira, 1994) e essas diferenças estão relacionadas ao grau de melanização da casca do ovo, ou seja, ovos mais escuros resistem mais à perda de água. Portanto, a melanina aumenta a sobrevivência fora da água e essa proteção conferida pela melanina depende da formação da cutícula serosa (Consoli; Oliveira, 1994; Abram *et al.*, 2015).

As cores dos ovos são demonstradas na literatura como uma importante estratégia de defesa contra predadores, como homocromia, mimetismo, camuflagem, interrupção visual e sinalização de alerta (aposemática) (Hinton, 1981). Por exemplo, as fêmeas do inseto *Podisus maculiventris* controlam seletivamente a cor dos ovos durante a oviposição: ovos mais escuros e mais claros são colocados na superfície superior e inferior das folhas, respectivamente. O pigmento escuro protege os ovos contra os efeitos deletérios da luz ultravioleta emitida pelo sol (Abram *et al.*, 2015).

A descoberta de que a pigmentação influencia o equilíbrio da água do ovo é importante para entendimento da história evolutiva da coloração do ovo de inseto. A casca do ovo e a pigmentação da cutícula adulta garantem a sobrevivência do inseto em alguns casos, entretanto, elas devem ser consideradas quanto à adequação das espécies e podem permitir novas abordagens/estratégias para o controle populacional de vetores ou insetos-praga.

As larvas passam a maior parte do tempo se alimentando de matéria orgânica, protozoários, bactérias, leveduras e algas no fundo e nas laterais do criadouro inundado (OECD, 2018a). É interessante

notar que em temperaturas baixas, como 15°C, as larvas podem se manter no estágio em que estão até que o ambiente esteja favorável para a conclusão do estágio larval (OECD, 2018b). Beserra; Fernades; Ribeiro (2009) observaram que na presença de, pelo menos 1,9mg de ração/larva no criadouro as larvas não serão afetadas no seu desenvolvimento até o estágio adulto, independentemente da densidade larval. A duração do período larval é adaptável às condições ambientais. Por exemplo, com recursos escassos e alta densidade larval, o desenvolvimento larval pode ser atrasado e ficar estacionado no último instar até que as condições ideais para o inseto se restabeleçam (Ritchie, 2014).

Precisam constantemente atingir a superfície da água para respirar o ar atmosférico, o qual absorvem através do sifão respiratório. Após o quarto estágio, a larva se transforma em pupa, que é móvel, ágil e absorve o ar através de duas trompas respiratórias localizadas no cefalotórax (Honório; Lourenço-de-Oliveira, 2001).

Em geral, as larvas possuem cabeça ovoide, tórax e abdome de nove segmentos e o décimo seguimento modificado em lobo anal. O segmento posterior (conhecido como lóbulo anal) tem quatro brânquias lobadas para regulação osmótica e um sifão curto em forma de barril com um único par de tufos subventrais para respirar na superfície da água. Características morfológicas adicionais incluem pelo menos três pares de cerdas na escova ventral, antenas que não são muito achatadas e falta de cerdas enormes no tórax. Estas características são suficientes para distinguir as larvas de *Aedes* da maioria das outras pertencentes à família *Culicidae* e subfamília *Culicinae* (OECD, 2018b).

As pupas de *Ae. aegypti* são muito móveis e rapidamente submergem em resposta a distúrbios externos. As pupas entram em contato com o ar através de trompetas respiratórias emparelhadas. O corpo da pupa é coberto por uma cutícula translúcida composta por um cefalotórax e um abdôme estreito e articulado. A região anterior do cefalotórax é ocupada por aparelhos bucais e cabeça achatada. Os olhos compostos dos adultos são visíveis em ambos os lados da cabeça. Diante dos olhos compostos, as antenas emergem na parte superior

e são dobradas para trás ao longo dos lados do tórax. O primeiro segmento abdominal possui dois feixes palmares retos, essenciais para manter o corpo da pupa acima da superfície da água. Comparado com outros oito segmentos abdominais, o nono é relativamente pequeno; ele contém alguns apêndices móveis chamados remos, que são órgãos fundamentais no movimento da pupa, e uma nervura central sustentada (Yamany; Adham; Abdel-Gaber, 2024). Os autores destacam que a descrição de pupas, apesar de ser incomum, contribui tanto para a taxonomia quanto para o controle desse inseto.

O dimorfismo sexual é importante, especialmente em técnicas de criação (OECD, 2018b). Da pupa, emerge a forma adulta. O macho se distingue essencialmente da fêmea por possuir antenas plumosas e palpos mais longos (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Geralmente, os machos são menores que as fêmeas, porém, devido a outros fatores como disponibilidade de alimento e densidade larval nos criadouros, o dimorfismo sexual confiável é de que o macho se distingue essencialmente da fêmea por possuir antenas plumosas e palpos mais longos. Machos e fêmeas se alimentam de açúcares de origem vegetal. A cópula envolve um ritual de acasalamento que começa na aglomeração de machos em locais de alimentação. Os machos nascem primeiro e ficam nestes locais juntos. As fêmeas são atraídas pelos sons de batimento das asas dos machos. A cópula ocorre, predominantemente no verão; os machos maiores, bem nutridos no período larval produzem mais espermatozoides e tem mais chances de copular. As fêmeas e machos se encontram durante o voo e procuram modular os batimentos de asas entre si, tocar os seus tarsos e fazer um alinhamento ventral para cópula, porém, o resultado positivo ocorre apenas em cerca de 15% dos casos. Os machos e fêmeas podem copular por diversas vezes ao longo da fase adulta preferencialmente no início ou fim do dia, no entanto, as fêmeas guardarão apenas os espermatozoides de sua primeira cópula, em um órgão chamado espermoteca (Carvalho; Moreira, 2017; Aldersley; Castor, 2019; Alfonso-Parra *et al.*, 2022; OECD, 2018b).

O ciclo gonotrófico, domiciliação e comportamento de oviposição de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

O entendimento do ciclo gonotrófico, da desova e hábitos alimentares e reprodutivos do mosquito transmissor dos vírus da dengue, Zika, Chikungunya, e de outras potenciais doenças virais que podem ser transmitidas devido a competência desse vetor, é parte importante para conhecimento, controle populacional e redução da incidência dessas múltiplas doenças. Estas arboviroses podem ser transmitidas e disseminadas por disponibilidade de indivíduos contaminados e que servem de reservatórios para a alimentação e transmissão vetorial por estes insetos (Consoli; Oliveira, 1994).

Para maturação dos ovos, as fêmeas precisam se alimentar de sangue (nutrir os ovos no abdome), podendo fazer este repasto em mais de uma pessoa antes da postura dos ovos. Esta característica, conhecida como discordância gonotrófica, aumenta suas chances de contrair vírus ou patógenos de hospedeiros vertebrados infectados (Degallier *et al.*, 1988).

As fêmeas se alimentam preferencialmente do sangue humano e por isso apresentam alto grau de antropofilia. Os picos de atividade hematofágica ocorrem geralmente, no início e fim do período vespertino, entretanto, como este inseto tem alta plasticidade comportamental, pode se adaptar ao horário do hospedeiro (Chadee, 2010; Carvalho; Moreira, 2017). Após o repasto sanguíneo, que se dá entre 48 e 72 horas após a emergência, as fêmeas procuram locais ou recipientes que possam acumular água, geralmente pobre em matéria orgânica, onde depositam seus ovos, isoladamente, nas paredes internas, próximos à lâmina d'água. A maior atividade de oviposição se dá nas primeiras horas do dia e ao anoitecer (Consoli; Oliveira, 1994). A quantidade de ovos postos por fêmea/ciclo gonadotrófico pode variar bastante, com médias que vão de 32 até 90 ovos (Almeida, 2003).

Geralmente, a oviposição ocorre nas paredes dos criadouros, próxima à superfície da água o que garante manutenção da umidade

e viabilidade dos ovos. Estes espaços se tornam bancos de ovos para eclosões posteriores e garantem a continuidade do processo reprodutivo e permanência dos insetos dos espaços urbanos ou peridomicílios, que possuem disponibilidade de alimentação, abrigo e proteção ao inseto. Nestes aspectos, a limpeza mecânica de espaços reprodutivos (criadouros) com esvaziamento de água, lavagem, escovação das paredes dos recipientes com depósitos de ovos, armazenados por adesão às paredes dos recipientes (Coon *et al.*, 2014), deve ser realizada para eliminação desses bancos de ovos.

As fêmeas tendem a distribuir pequenos grupos de ovos de um mesmo ciclo gonadotrófico em mais de um criadouro, comportamento que potencializa sua dispersão e dificulta as ações de controle. Estudos sobre a dispersão do *Ae. aegypti* (soltura e recaptura) realizados no Brasil demonstraram que as fêmeas podem ovipor até uma distância de 800 m do ponto de liberação em busca de novos sítios de oviposição (Honório *et al.*, 2003). O *Ae. aegypti* é um inseto "estrategista", cuja sobrevivência de sua população está baseada na capacidade de colonizar e se adaptar a estes habitats instáveis, aliada ao curto ciclo geracional e elevada fecundidade/fertilidade. A interação destes fatores favorece o rápido crescimento populacional, gerando acentuadas flutuações temporais de densidade (Consoli; Oliveira, 1994).

A alimentação de insetos machos e fêmeas do *Ae. aegypti* está baseada em substâncias ricas em carboidratos de extratos vegetais. Entretanto, para a continuidade do processo reprodutivo, a fêmea pica o homem para sugar sangue (hematofagia). Este alimento é rico em proteína pré-metabolizada, nutrientes e minerais, e necessário à maturação dos ovos. Neste aspecto, hematofagia é mais intensa a partir do segundo ou terceiro dia após a emergência da pupa em inseto alado, a partir da cópula com o macho para a reprodução da espécie (Forattini, 2002; Brasil, 2001). O mosquito no criadouro avança da fase imatura de ovos à forma adulta alada que é responsável pela propagação das doenças vetorialmente transmitidas. A literatura mostra diferenças nos ciclos em termos de tamanho, tempos e comportamentos da espécie *Aedes* spp. (Forattini, 2002). O ciclo reprodutivo do *Aedes* spp. é dependente da temperatura, disponibilidade de alimen-

tos e cooperações simbióticas com outras espécies e microrganismos e até mesmo da quantidade de larvas existentes no criadouro, pois há competição das larvas por alimento, por exemplo, em um criadouro com pouca água e\ou alimento disponível, que pode afetar a continuidade reprodutiva do inseto até a fase adulta do ciclo (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

De acordo com condições ambientais mais favoráveis o tempo de reprodução se acelera e em condições desfavoráveis retarda. Após a eclosão do ovo, o desenvolvimento do mosquito até a forma adulta alada ocorre, em média, em torno de 7-10 dias até 21-30 dias, a depender das condições ambientais impostas ao processo reprodutivo. Os fatores climáticos e ambientais podem atuar de modo a favorecer ou desfavorecer o processo reprodutivo reduzindo ou estendendo o tempo de reprodução de 7 até 30 dias (Degallier *et al.*, 1988; Forattini, 2002; Braga; Valle 2007; Coon *et al.*, 2014).

O processo de reprodução por acasalamento do *Ae. aegypti* ocorre no peridomicílio nos primeiros dias da fase adulta do mosquito. A partir da cópula para a reprodução, a fêmea armazena o esperma na espermateca e realiza a hematofagia para o desenvolvimento dos ovos por maturação nos ovários. As fêmeas, normalmente, encontram-se aptas para a postura de ovos em três dias após a ingestão de sangue (hematofagia) e, após este processo, buscam locais adequados (criadouros) para a desova e continuidade do ciclo reprodutivo. O ritual de cópula depende da temperatura, de fatores nutricionais e também da microbiota dos adultos, isto é, em temperaturas ideais no verão, adultos mais bem alimentados e microbiota favorável à reprodução a cópula é facilitada (Alfonso-Parra *et al.*, 2022).

Há estudos que demonstram que, qualquer espaço de contenção de água, mesmo com condições físico-químicas ou até biológicas desfavoráveis, incluindo organismos competidores, o processo pode ocorrer, apesar destes microambientes não serem adequados à reprodução do inseto (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002). Este aspecto da biologia e comportamento do mosquito demonstram a capacidade e resiliência do inseto, a partir dos processos de adaptação ao meio, que podem comprometer o controle preventivo e a redução de inci-

dência de doenças virais. Neste contexto, interessante é conhecer aspectos do ciclo reprodutivo do *Ae. aegypti*.

O ciclo biológico de *Ae. aegypti* pode ser considerado parte importante do controle para estratégias de controle populacional (emergência, longevidade e oviposição). Quanto à duração máxima da longevidade de fêmeas, Sampaio (2010) registrou até 58 dias, enquanto Oliva (2011) observou até 49 dias (padrão de oviposição e ciclos gonotróficos de *Ae. aegypti* Linnaeus). Ainda, Oliva observou uma longevidade média de 30 dias para as fêmeas, o que garantiu a todas as fêmeas pelo menos três ciclos gonotróficos, que, aliás, foram os mais fecundos. Os machos têm de 3 a 6 dias de longevidade (Clements, 2000).

As fêmeas realizaram o repasto sanguíneo e iniciaram a postura cerca de três a cada repasto, o que é corroborado por outros autores (Reinhold *et al.*, 2018; Scott *et al.*, 1993), com média variável de oviposição; em média 17 ovos/fêmea/dia com fecundidade total média/fêmea observada para *Ae. aegypti* em torno de 48 e fecundidade diária média/fêmea em torno de 2. Os estudos mostraram a expectativa de vida maior para as fêmeas, mas longevas ($e_x = 44,50$) em relação aos machos ($e_x = 23,90$). Castro Jr. e colaboradores (2013) obtiveram dados de fecundidade e longevidade maiores; apesar de ter corroborado com a longevidade maior de fêmeas.

As principais arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes aegypti*

O *Ae. aegypti*, pequeno e agressivo mosquito, é conhecido por ser o principal portador da dengue no mundo. As arboviroses foram responsáveis pela morte de mais pessoas que todas as guerras da história. Os mosquitos que transmitem a malária, dengue e outras doenças virais estimam matar entre 2 e 3 milhões de pessoas e infectar mais de 200 milhões todos os anos.

Arbovírus, do inglês *Arthropod Borne Viruses*, são vírus transmitidos por artrópodes cuja maioria são da classe Insecta (Forattini, 2002). Arboviroses são doenças virais transmitidas por artrópodes pelo fato do seu ciclo replicativo ocorrer principalmente nos insetos e carrapatos. Dentre mais de 545 espécies de arbovírus já conhecidas, cerca de 150 espécies causam doenças em humanos. As arboviroses são transmitidas aos humanos e outros animais pela picada de artrópodes hematófagos como o mosquito *Ae. aegypti*, sendo este o principal vetor por transmitir arboviroses como Chikungunya, dengue, febre amarela, Zika. Devido a sua habilidade de se adaptar com mais facilidade principalmente em áreas tropicais e nos ambientes urbanos, notou-se um aumento no número de casos das arboviroses transmitidas pelo mosquito diretamente associado a propagação das populações do *Ae. aegypti* (Lopes; Nozawa; Linhares, 2014; Zara *et al.*, 2016).

Os arbovírus têm se tornado um grande problema de saúde pública mundial, pelo potencial de disseminação, capacidade de adaptação a novos ambientes e hospedeiros, e principalmente pela possibilidade de causar epidemias extensas (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017). Os arbovírus, em sua maioria, possuem um genoma constituído por ácido ribonucleico (RNA), que pode ser segmentado ou não, com fita simples ou dupla e polaridade negativa e/ou positiva (Monath, 1988).

Existem alguns fatores que contribuem para emergência e reemergência de arbovírus, tais como modificação dos ecossistemas, crescimento urbano desordenado, alterações climáticas, movimentos voluntários (por trabalho ou lazer), movimentos involuntários (desastres e refugiados) e a globalização (Câmara, 2016). As regiões tropicais são as mais ameaçadas por esses vírus, devido às mudanças climáticas, pela situação de rápida e desordenada ocupação de áreas urbanas, além de ser a faixa onde ocorre grande parte dos países em desenvolvimento, onde a infraestrutura sanitária urbana tende a ser precária (Lopes; Nozawa; Linhares, 2014).

Como situações de desmatamento, ocupação urbana sem planejamento e deficiência em infraestrutura sanitária contribuem para o desenvolvimento do vetor, uma vez que esses vírus cheguem no Bra-

sil, sua circulação e permanência são demasiadamente facilitadas. Essas arboviroses causam um grande impacto nos índices de morbidade e mortalidade na população e se intensificam à medida que as epidemias aumentam e acometem um grande número de indivíduos, acarretando implicações nos serviços de saúde diante da ausência de tratamento, vacinas e outras medidas efetivas de prevenção e controle (Donalisio; Freitas; Zubenz, 2017).

O ciclo de transmissão dos arbovírus supracitados ocorre por meio de uma fêmea adulta do *Ae. aegypti* quando esta efetua o repasto sanguíneo em um hospedeiro infectado. O vírus se aloja no estômago do inseto, e este não é capaz de transmiti-lo ainda neste estágio. Aproximadamente 12 dias depois, o vírus se dissemina pelo organismo do vetor se multiplicando, invadem suas glândulas salivares (a fêmea se torna infectiva) e é transmitido para outro hospedeiro suscetível em uma alimentação sanguínea futura. Para que a transmissão viral ocorra de modo eficiente, o vetor precisa ter competência vetorial, o que garante a efetividade do ciclo das arboviroses (Gutiérrez-Bugallo *et al.*, 2020).

Dengue

O vírus Dengue (DENV) pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, que contém cerca de 70 vírus, e apresenta quatro sorotipos designados DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4, com propriedades antigênicas distintas. Os *Flavivirus* são os menores vírus de RNA, que medem aproximadamente 40-50nm de diâmetro, esféricos, envoltos por um envelope lipídico. O genoma dos DENV constitui uma fita de RNA simples com 11 kilobases (kb), com três proteínas estruturais e sete não estruturais. A infecção por um dos seus sorotipos fornece imunidade contra o sorotipo, porém com proteção temporal e parcial para os demais (Gubler, 1998; Romanos; Santos; Wigg, 2015).

Nas Américas a endemia se expandiu desde a segunda metade do século XX, com ciclo de caráter urbano devido à relação entre o ser

humano e o vetor (Forattini, 2002). A dengue é considerada a arbovirose mais incidente no mundo, especialmente em países tropicais (Brasil, 2016), com mais de 3,9 bilhões de pessoas correndo o risco de contrair a doença (WHO, 2024).

O *Ae. aegypti*, este pequeno mosquito é conhecido por ser o principal vetor da dengue, doença que no Brasil mata mais do que 20 mil pessoas para cada 550.000 hospitalizadas por dengue (Santos; Vieira; Costa, 2024). Arboviroses foram responsáveis pela morte de mais pessoas que todas as guerras da história. Estima-se que os mosquitos que transmitem a malária, dengue e outras doenças virais matem entre 2 e 3 milhões de pessoas e infectem mais de 400 milhões todos os anos, 100 milhões sintomáticas e aproximadamente 300 milhões de infecções assintomáticas (e, estima-se mais de 40 mil morrem em consequência da doença), com maior ocorrência na Ásia (75%), seguida pela América Latina e África (OPAS, 2024; WHO, 2024; CDC, 2024). Ainda, mais de 3,9 bilhões de pessoas em mais de 129 países estão em risco de contrair arboviroses. De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), a incidência global da dengue teve um aumento drástico nas últimas décadas e quase metade da população mundial está em risco de contrair a doença (CDC, 2024).

Braga e Valle (2007) destacam a necessidade de maiores investimentos em metodologias que motivem mudanças de comportamento da população quanto ao controle do vetor; e maior atenção as atividades de controle racional de vetores, o que pode levar à sustentabilidade do controle pelo manejo ambiental.

É também identificada como uma doença febril aguda que tem evolução benigna na forma clássica, e grave, quando na forma hemorrágica. Os sintomas da dengue podem variar da forma assintomática (onde o indivíduo infectado pelo vírus não apresenta sintomas da doença) à grave, indivíduo com sintomas. Quando sintomática, se mostra como uma doença sistêmica e dinâmica, podendo ocorrer em três fases: fase febril, fase crítica e a fase de recuperação. Após a picada do mosquito infectado, os sintomas podem ser observados cerca de 4 a 10 dias e os sinais mais comuns são: febre alta (acima de 38°C, de 2-7 dias), dores articulares e musculares, intensas dores de cabeça

e atrás dos olhos, náuseas, vômitos, cansaço, falta de apetite e irritação na pele. Nos casos mais graves, nota-se a dor abdominal mais persistente, sinal de sangramento e tontura, e se não for tratado com cautela, isso pode levar à morte (OPAS, 2024).

Dalbem *et al.* (2014) aborda em seu estudo a dengue clássica e dengue grave, podendo as duas serem causadas pelos quatro sorotipos. A forma clássica se encaixa na primeira fase da dengue, a fase febril, e a dengue hemorrágica se enquadra na fase crítica, reafirmando a importância de controle do *Ae. aegypti*, seu principal vetor urbano.

Zika

Zika é uma arbovirose causada pelo vírus Zika (ZIKV), que é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus* e a família *Flaviviridae*. O ZIKV é um vírus emergente, que foi isolado pela primeira vez no ano de 1947 na Floresta de Zika, Uganda e desde então tem se espalhado pelo mundo. Houve surto na ilha de Yap (Micronésia) em 2007 no qual 75% da população foi infectada pelo vírus. E, 2013 e 2014 houve uma epidemia da Polinésia Francesa, onde a incidência de síndrome de Guillain-Barré (SGB) foi 20 vezes superior. No Brasil os primeiros casos reportados datam do final de 2014 e início de 2015, na região nordeste, de onde se espalharam para outras partes do país. Em 2016, ano com maior incidência da doença, houve confirmação e transmissão autóctone do vírus Zika em todas as unidades federadas do Brasil, com mais de 100 mil casos notificados e três óbitos (Brasil, 2016).

É um vírus de RNA de fita simples e de polaridade positiva, com tropismo para o sistema nervoso central. É igualmente transmitido pelos mosquitos *Aedes*, provocando a doença após um período de incubação do vírus que ainda não está totalmente esclarecido, mas que é de provavelmente alguns dias (Lopes; Nozawa; Linhares, 2014; Brasil, 2016; WHO, 2016).

A infecção pelo ZIKV pode se manifestar de duas formas: assintomática ou sintomática. Grande parte dos infectados pelo vírus

podem não apresentar sintomas. Quanto aos sintomas, com algumas semelhanças aos das outras arboviroses: febre baixa ou ausente, mal-estar, exantema, mialgia e artralgia, erupção cutânea, conjuntivite não purulenta, dor de cabeça, exantema, dor nas articulações e dor muscular (Brasil, 2020; OPAS, 2024). E assim como na fase febril da dengue, esses sintomas são rápidos e duram entre dois e sete dias. Por ser uma doença de curso rápido, não requer tratamento específico, indicando apenas o repouso e hidratação.

Casos de microcefalia em recém-nascidos, em conjunto com outros distúrbios neurológicos associados à infecção pelo ZIKV levaram a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar o Zika vírus como uma emergência de Saúde Pública de preocupação mundial, e a falta de medicamentos específicos e vacinas contra essas infecções corroboram para a importância do controle do *Ae. aegypti* (WHO, 2016).

Chikungunya

A Chikungunya é uma arbovirose causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV) que, diferente das duas outras arboviroses, pertence à família *Togaviridae* do gênero *Alphavirus*. O vírus CHIKV foi primeiramente isolado na Tanzânia por volta de 1952. A partir de então, houve casos em vários países (Mathias; Vasconcelos; Rolim, 2016). Em outubro de 2013, esse vírus chegou ao Caribe e se espalhou pelas Américas (Honório *et al.*, 2015). No Brasil, foi confirmada a transmissão em 2014 em Oiapoque (Amapá), e Feira de Santana (Bahia), a partir de onde se espalhou para os demais estados do país (Brasil, 2017).

O CHIKV apresenta genoma de RNA de fita simples de sentido positivo (ssRNA+), que funciona como RNA mensageiro, o que torna o processo infeccioso mais rápido e eficiente e muito similar ao comportamento do usuário e propagação de conteúdos em sites de redes sociais (Strauss; Strauss, 1994; Waheed *et al.*, 2017). Constituído de sequências estruturais (capsídeo, proteínas E3, E2, 6K, TF e E1) e não estruturais (proteínas nsP1-nsP4) de nucleotídeos com potencial

codificador de proteínas virais, o vírus torna-se infeccioso após envolvimento com a bicamada lipídica da célula hospedeira, mediado pelas proteínas E2 e E1 (Jose; Snyder; Kuhn, 2009; Taylor, 2017).

O CHIKV apresenta grade plasticidade genética e frequentes mutações. Isso permite a esse vírus capacidade de se adaptar a diferentes hospedeiros e produzir epidemias urbanas, tendo o homem como amplificador vertebrado exclusivo (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017).

O período de incubação tem uma média de 3-7 dias, no ser humano, após a picada, e tem uma faixa de variação de 1-12 dias, e no vetor, em média dez dias, e o período de viremia pode durar entre 8 e 10 dias. Mais de 50% dos infectados com o vírus apresentam sintomas da doença, muito mais que os infectados pelas outras arboviroses. E ela se distribui igualmente entre homens e mulheres em todas as faixas etárias (Brasil, 2017).

Quanto aos sinais e sintomas, a doença se manifesta de forma semelhante à da dengue, com febre, que pode ser contínua ou não, ou bifásica. A poliartralgia é relatada na maioria dos casos, apresentando também mialgia, cefaleia, exantema entre outros, mas eles são diferentes e avançam conforme a fase da doença (Brasil, 2017).

Castro, Lima e Nascimento (2016) afirmam que a doença tem um espectro clínico amplo e que ela tem a tendência de se apresentar em duas fases, fase aguda e fase crônica. A fase crônica, se dá após a fase aguda quando não há uma melhora do quadro, tendo uma persistência da artralgia. Nesse caso ela pode persistir por semanas e anos.

Com duração geralmente de sete dias, a fase aguda, primeiro estágio da doença, possui geralmente o seguinte perfil: 1. Aparecimento súbito de febre de curta duração que pode ser bifásica, contínua e intermitente; 2. Poliartralgia geralmente simétrica, bilateral e edemaciada, com acometimento mais distal. 3. Erupções cutâneas, pruriginosas ou não, do tipo macular ou maculopapular que surge após o primeiro dia de febre e dura até o sexto dia da infecção, podendo ser manifestadas nas extremidades, tronco e face. Outros sinais cutâneos como lesões vesiculobolhosas, hiperpigmentação e dermatite esfoliativa também podem estar presentes. 4. Mialgia, cefaleia, diarreia,

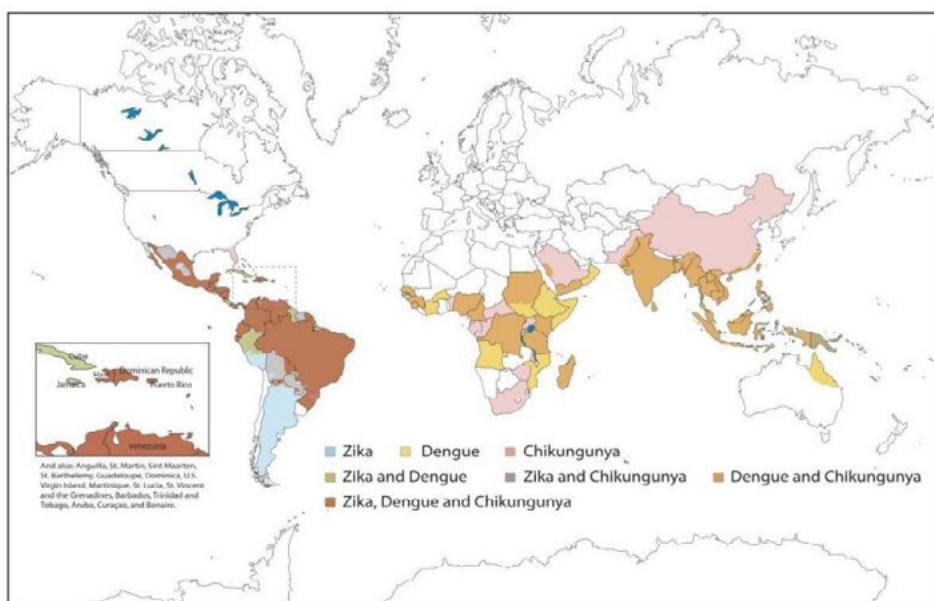
calafrios, náuseas, vômitos, conjuntivite sem secreção, neurite e faringite são outros sinais e sintomas comumente presentes nesta fase (Brasil, 2017; Dupuis-Maguiraga *et al.*, 2012; Manimunda, 2010).

A segunda fase, chamada de "subaguda", é caracterizada pela persistência dos sintomas artralgicos, tenossinovite em mãos, punhos e tornozelos e ainda bursite, acompanhados de edema, e podem progredir continuamente ou de modo alternado, somado ainda a astenia e rigidez ao levantar-se após longo período em repouso (Waymouth; Zoutman; Towheed, 2013). Pode ocorrer ainda, recorrência de febre e lesões cutâneas, e o aparecimento de sintomas depressivos, doença vascular periférica e fadigabilidade (Brasil, 2017).

A persistência por três meses dos sintomas subagudos determina a fase "crônica", a qual atinge de 14,4 a 87,2% da população de pacientes infectados (Hayd *et al.*, 2020). Neste estágio os sintomas musculoesqueléticos, articulares e neuropáticos presentes desde a fase aguda encontram-se conservados. De modo incomum, alguns sinais e sintomas presentes nas fases anteriores podem reaparecer, como cefaleia, fadiga, prurido e irritação cutânea (Brasil, 2017). Alguns fatores de risco estão associados à cronificação, como intensidade das lesões articulares na fase aguda, sexo feminino, idade maior que 45 anos e presença de comorbidades (Schilte *et al.*, 2013; Brasil, 2017; Hayd *et al.*, 2020).

Ao longo dos últimos anos, DENV, ZIKV e CHIKV têm se disseminado pelo mundo, principalmente pelo hemisfério ocidental (**Figura 3**). A falta de medicamentos específicos e vacinas contra as infecções provocadas por esses arbovírus corroboram para a importância do controle do *Ae. aegypti* (Valle *et al.*, 2019; Hayd *et al.*, 2020).

Figura 3 - Distribuição global estimada da ocorrência de dengue, Zika e Chikungunya no mundo.



Fonte: Patterson; Sammon; Garg, 2016.

Prevenção das arboviroses

As arboviroses representam mais de 17% de todas as doenças infecciosas, causando mais de 700 mil mortes por ano. Muitas das doenças transmitidas por vetores são evitáveis, através de medidas de proteção e mobilização comunitária (WHO, 2024). A *Global Vector Control Response* (GVCR) 2017–2030 foi aprovada pela Assembleia Mundial da Saúde em 2017. Ela fornece orientação estratégica aos países e parceiros de desenvolvimento para o fortalecimento urgente do controle de vetores como uma abordagem fundamental para prevenir doenças e responder a surtos. Para tal, é necessário um realinhamento dos programas de controle de vetores, apoiado por uma maior capaci-

dade técnica, melhoria das infraestruturas, sistemas de monitorização e vigilância reforçados e uma maior mobilização da comunidade. Em última análise, isso apoiará a implementação de uma abordagem abrangente para o controle de vetores, que permitirá a realização de metas nacionais e globais específicas da doença e contribuirá para a realização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável e da Cobertura Universal de Saúde. A OMS responde a doenças transmitidas por vetores:

- fornecer orientações baseadas em evidências para controlar vetores e proteger as pessoas contra infecções;
- prestar apoio técnico aos países para que estes possam gerir eficazmente os casos e os surtos;
- apoiar os países a melhorarem os seus sistemas de notificação e a captarem o verdadeiro fardo da doença;
- ministrar formação (capacitação) em gestão clínica, diagnóstico e controlo de vetores com o apoio de alguns dos seus centros colaboradores; e
- apoiar o desenvolvimento e a avaliação de novas ferramentas, tecnologias e abordagens para as doenças transmitidas por vectores, incluindo o controlo de vectores e as tecnologias de gestão de doenças.

Um elemento crucial na redução da carga de doenças transmitidas por vetores é a mudança de comportamento. A OMS trabalha com parceiros para fornecer educação e melhorar a conscientização pública, para que as pessoas saibam como proteger a si mesmas e suas comunidades de mosquitos (WHO, 2024).

Como as arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti* continua a crescer em escala global, novas ferramentas de controle vetorial e estratégias integradas serão necessárias para atender às demandas de saúde pública nas esferas de governo. E as decisões sobre a implementação de estratégias de controle do vetor dependem dos principais parâmetros ecoepidemiológicos que se destina a impactar de forma ideal para reduzir a transmissão de arbovírus.

No entanto, o controle de vetores não conseguiu evitar incidência de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Ae. aegypti*, como con-

sequência, tem havido uma necessidade crescente de otimizar ainda mais as estratégias atuais dentro de abordagens integradas e avançar no desenvolvimento de estratégias alternativas e inovadoras para o controle de arbovírus transmitidos por estes vetores.

A prevenção das arboviroses se torna assunto de importância, evidenciando-se as campanhas de educação sanitária e da vigilância como meios valiosos para combate das arboviroses. Devem ser constantes e eficazes no controle das doenças em humanos, animais e no combate ao vetor. É de competência da Vigilância Epidemiológica o acompanhamento dos índices de infestação vetorial, pois entende-se hoje que a melhor forma de prevenção é o combate ao vetor. Compete ainda à Vigilância Epidemiológica, o acompanhamento da evolução da dengue, Zika e Chikungunya, prestar assistência a todas as instâncias de prevenção e adotar medidas que diminuam os casos e a gravidade da doença (Linhares; Cesar, 2017).

Donalisio; Freitas; Zubem (2017) afirmam a necessidade de se investir nas ações das diferentes vigilâncias no combate às arboviroses, especialmente de investigação epidemiológica de outros arbovírus, dada sua importância na saúde pública mundial. Colocam ainda como interessante uma ação internacional conjunta para se constatar de forma precoce a entrada de novos vírus em áreas mais propícias.

Hayd *et al.* (2020) chamam atenção para a importância de prevenção da dengue, Zika e Chikungunya no país, através de medidas governamentais que priorizem o controle vetorial, pois se mostram um desafio aos programas existentes devido sua capacidade de adaptação e reprodução.

O controle do vetor continua sendo a principal estratégia de ação na cadeia epidemiológica. O controle químico do *Ae. aegypti* será ainda por muito tempo uma das principais estratégias a serem utilizadas, principalmente durante situações de epidemia, onde se espera reduzir rapidamente a densidade do vetor. Para o sucesso desta estratégia é necessário que as populações de mosquitos sejam susceptíveis aos inseticidas aplicados.

Portanto, é necessário que se conheça o perfil de susceptibilidade das populações naturais de *Ae. aegypti* aos inseticidas, de forma a

se evitar pressão de seleção exacerbada e de se fazer a escolha mais consciente sobre quais compostos devem ser aplicados no controle.

Considerações finais

A sinantropia, antropofilia e a adaptação ao ambiente urbano cada vez mais favorável ao mosquito devido ao aumento de criadouros artificiais, aliadas à plasticidade comportamental, desenvolvimento rápido, resistência dos ovos à dessecação e resistência aos inseticidas foram fatores determinantes para o sucesso na dispersão do *Ae. aegypti* nas regiões tropicais e subtropicais. A competência vetorial para importantes arboviroses como dengue, zika e Chikungunya fizeram desse mosquito o alvo central em políticas de vigilância entomoepidemiológica de diferentes arboviroses transmitidas por esta espécie. O sucesso do mosquito *Ae. aegypti* é bastante discutido, destacando-se como pilares a plasticidade comportamental, desenvolvimento rápido, resistência dos ovos à dessecação, resistência aos inseticidas, preferência pelo ambiente urbano e proximidade com o ser humano (Carvalho; Moreira, 2017). O comportamento de dispersão dos ovos pelas fêmeas de *Ae. aegypti*, o rápido desenvolvimento aquático, o prolongamento do período larval em temperaturas baixas, a quiescência dos ovos, o comportamento de cópula e dimorfismo sexual, e a discordância gonotrófica são aspectos adaptativos e reprodutivos deste vetor que favorecem tanto sua distribuição geográfica quanto a transmissão de importantes arboviroses. Considerar as particularidades do ciclo biológico e comportamento reprodutivo deste inseto é relevante para a elaboração de estratégias de controle populacional deste importante vetor. Discutir este assunto se torna relevante neste livro para encontrar um planejamento eficaz de controle para redução populacional do mosquito e eliminação de criadouros (Hayd et al., 2020). Este trabalho busca aprofundar o conhecimento no ciclo de vida do inseto, a fim de fornecer informações que subsidiem a tomada

de decisão nas esferas governamentais com o objetivo de interromper o ciclo de vida do mosquito e reduzir a incidência das doenças.

Portanto, devido ao cenário atual de incidência e prevalência de Zika, Chikungunya e dengue no Brasil, torna-se relevante conhecer o vetor para propor estratégias de controle do *Ae. aegypti*, com ênfase nas inovações tecnológicas promissoras para utilização em nosso país. Este capítulo abordou tópicos sobre a morfologia do vetor em suas fases do ciclo de vida e estratégias de controle vetorial das formas imaturas. Espera-se que essas informações possam contribuir para a reflexão sobre o tema, bem como nortear a tomada de decisão nas esferas governamentais com relação ao controle populacional do *Ae. aegypti*.

Referências

- ABRAM, P. K; GUERRA-GRENIER, E; DESPRES-EINSPENNER, M. L; ITO, S; WAKAMATSU, K; BOIVAN, C; BRODEUR, J. An insect with selective control of egg coloration. **Current Biology**, [S. l.], v. 25, p. 2007-2011, 2015.
- ALDERSLEY, A; CATOR, L. J. Female resistance and harmonic convergence influence male mating success in *Aedes aegypti*. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 9, n. 2145, p. 1-12, 2019.
- ALFONSO-PARRA, C; OSÓRIO, J; AGUDELO, J; DÍAZ, S; RAMÍREZ-SÁNCHEZ, L; ÁVILA, F. Más Que Ovulos y Esperma: Factores Masculinos, Femeninos, y Ambientales Que Influyen En La Reproducción de Mosquitos de *Aedes* y *Anopheles*. **Revista Colombiana de Entomología**, [S. l.], v. 48, n. 2, p. 1-13, 2022.
- ALMEIDA, E. A. P. **Padrão de oviposição e ciclos gonotróficos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e *Aedes albopictus* Skuse, 1894 (Diptera: Culicidae) em Laboratório**. 37 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) — Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.
- BECKER, N; PETRIC, D; ZGOMBA, M; BOASE, C; MADON, M; DAHL, C; KAISER, A. Mosquitoes and their control. **Kluwer Academic**, New York, p. 377, 2003.
- BESERRA, E. B; FERNANDES, C. R. M; RIBEIRO, P. S. Relação entre densidade larval e ciclo de vida, tamanho e fecundidade de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, [S. l.], v. 38, n. 6, p. 847-852, 2009.
- BORGES, P. F. C. **Monitoramento e controle de mosquitos vetores: uma proposta para avançar no conhecimento e no controle de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus***. 2018. 177 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) — Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.
- BRAGA, I. A; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, p. 113-118, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle de Vetores Procedimento de Segurança**. Brasília, DF: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Vigilância das doenças transmissíveis. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança**. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 58p. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/dengue/dengue-manejo-adulto-crianca-5d-1.pdf/view>. Acesso em: 20 maio 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção Básica. **Chikungunya: Manejo Clínico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/367759/>. Acesso em: 20 maio 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Governo Federal. **Zika vírus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/z/zika-virus>. Acesso em: 20 maio 2024.

CÂMARA, F. P.; THEOPHILO, R. L. G.; SANTOS, G. T.; PEREIRA, S. R. F. G.; CÂMARA, D. C. P.; MATOS, R. R. C. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 192-196, 2007.

CÂMARA, D. C. P.; CODEÇO, C. T.; JULIANO, A. S.; LOUNIBOS, L. P.; RIBACK, T. I. S.; PEREIRA, G. R.; HONÓRIO, N. A. Seasonal Differences in Density But Similar Competitive Impact of *Aedes albopictus* (Skuse) on *Aedes aegypti* (L.), Rio de Janeiro, Brasil. **PLoS One**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. 1-15, 2016.

CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species? **Neotropical Entomology**, [S. l.], v. 46, p. 243-255, 2017.

CASTRO, A. P. C. R.; LIMA, R. A.; NASCIMENTO, J. S. Chikungunya: a visão do clínico de dor. **Revista Dor**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 299-302, 2016.

CASTRO, Jr. F. P.; MARTINS, W. F. S.; LUCENA FILHO, M. L. D.; ALMEIDA, R. P. D.; BESERRA, E. B. Ciclos de vida comparados de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) do semiárido da Paraíba. **Iheringia Série Zoologia**, [S. l.], v. 103, n. 2, p. 118-123, 2013.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. **Nature, Aedes Aegypti Mosquito to stilt, the life cycle**. Ideal for informational and institutional related sanitation and care. DeKalb: CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2020. Disponível em: <https://www.shutterstock.com/pt/image-vector/nature-aedes-aegypti-mosquito-stilt-life-369343772>. Acesso em: 20 maio 2024.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. **Global Dengue**. DeKalb: CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2024. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/notices/level1/dengue-global>. Acesso em: 20 maio 2024.

CHADEE, D. D. The diel oviposition periodicity of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies: effects of forced egg retention. **Bulletin of Entomological Research**, [S. l.], v. 100, n. 5, p. 599-603, 2010.

CLEMENTS, A. N. **The Biology of Mosquitoes, vol. I: Development, Nutrition and Reproduction**. 2. ed. Wallingford: CABI, 2000.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p.

COON, K. L.; VOGEL, K. J.; BROWN, M. R.; STRAND, M. R. Mosquitoes rely on their gut microbiota for development. **Molecular Ecology**, [S. l.], v. 23, n. 11, p. 2727-2739, 2014.

DALBEM, A. G.; HERLING, J. D.; VIEIRA, R. G.; SOUZA, V. A. I. Dengue clássica e febre hemorrágica da dengue: etiologia, fisiologia, epidemiologia e fatores de risco. **Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina**, [S. l.], v. 1, p. 18-36, 2014.

DÉGALLIER, N.; HERVÉ, J. P.; ROSA, A. P. A. T.; SÁ FILHO, G. C. *Aedes aegypti* (L): importance de sa bioécologie dans la transmission de la dengue et des autres arbovirus – Première partie. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique et de ses filiales**, [S. l.], v. 81, p. 97-110, 1988.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a Clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, [S. l.], v. 51, n. 30, p. 1–6, 2017.

DUPUIS-MAGUIRAGA, L; NORET, M; BRUN, S; LE GRAND, R, GRAS, G, ROQUES P. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 6, n. 3, e1446, p. 1-10, 2012.

FIOCRUZ. Instituto Oswaldo Cruz. **Aedes aegypti e Aedes albopictus**: uma ameaça aos trópicos. Produção Audiovisual e tratamento de imagem do IOC, FIOCRUZ. Produzido por Genilton José Vieira e Autoração de Leonardo Perím. Rio de Janeiro, 2009. 1 DVD (21 min).

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002. v. 2, p. 403-484.

GUBLER, D. J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

GUTIÉRREZ-BUGALLO, G, BOULLIS, A; MARTINEZ, Y; HERY, L; RODRÍGUEZ, M; BISSET, J. A; VEGA-RÚA, A. Vector competence of *Aedes aegypti* from Havana, Cuba, for dengue virus type 1, chikungunya, and Zika viruses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 14, n. 12, p. 8941, 2020.

HAYD, R. L. N; MORENO, M. R; NAVECA, F; AMDUR, R; SUCHOWIECKI, K; WATSON, H; FIRESTEIN, G. S; SIMON, G; CHANG, A. Y. Persistent chikungunya arthritis in Roraima, Brazil. **Clinical Rheumatology**, [S. l.], v. 39, n. 9, p. 2781-2787, 2020.

HAYD, R. L. N; CARRARA, L; LIMA, J. M; ALMEIDA, N. C. V; LIMA, J. B. P; MARTINS, A. J. Evaluation of resistance to pyrethroid and organophosphate adulticides and kdr genotyping in *Aedes aegypti* populations from Roraima, the northernmost Brazilian State. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 13, n. 264, p. 1-9, 2020.

HINTON, H. E. **Biology of insect eggs**. Oxford: Pergamon Press, 1981.

HONÓRIO, N. A; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, [S. l.], v. 35, n. 4, p. 385-391, 2001.

HONÓRIO, N. A; SILVA, W. C; LEITE, P. J; GONÇALVES, J. M; LOUNIBOS, L. P; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the state of Rio de Janeiro, Brazil.

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 98, n. 2, p. 191-198, 2003.

HONÓRIO, N. A; CÂMARA, D. C. P; CALVET, G. A; BRASIL, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Perspectivas: Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p. 906-908, 2015.

JOSE, J; SNYDER, J. E; KUHN, R. J. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. **Future Microbiology**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 837-856, 2009.

LINHARES, A. O; CESAR, J. A. Suplementação com ácido fólico entre gestantes no extremo Sul do Brasil: prevalência e fatores associados. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, p. 535-542, 2017.

LOPES, N; NOZAWA, C; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

MANIMUNDA, S. P; VIJAYACHARI, P; POBRE, R; SUGUNAN, A. P; SINGH, S. S; RAI, S. K; SUDEEP, A. B; MURUGANANDAM, N; CHAITANYA, I. K; GURUPRASAD, D. R. Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 104, n. 6, p. 392-399, 2010.

MATHIAS, D. P, VASCONCELOS, J. W. T, ROLIM NETO, R. **Complicações neurológicas secundárias à infecção pelos vírus Zika e Chikungunya**: revisão integrativa. 91 f. Monografia (Bacharelado em Medicina) — Centro de Formação de Professores, Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, Paraíba, Brasil, 2016.

MONATH, T. P. Yellow Fever. In. MONATH, T. P (Ed.) The arboviruses: epidemiology and ecology. **CRC Press**, Boca Raton, v. 5, p. 139-231, 1988.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, [S. l.], v. 64, p. 205-207, 2002.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Reproductive biology of the mosquito *Ae. aegypti*. In: **Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment, vol. 8**: OECD Consensus Document of the Biology of Mosquito *Aedes aegypti*. Paris: OECD, 2018a.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Taxonomy, description and distribution of the mosquito *Ae. aegypti*. In: **Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment, vol. 8**: OECD Consensus Document of the Biology of Mosquito *Aedes aegypti*. Paris: OECD, 2018b.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. **Alerta Epidemiológico**: Aumento de casos de dengue na Região das Américas. Washington: OPAS/OMS, 2024.

PATTERSON, J; SAMMON, M; GARG, M. Dengue, Zika and Chikungunya: Emerging Arboviruses in the New World. **Western Journal of Emergency Medicine**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 671-679, 2016.

REINHOLD, J; LAZZARI, C; LAHONDÈRE, C. Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes: A Review. **Insects**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 158, 2018.

RITCHIE, S. A. Dengue vector bionomics: why *Aedes aegypti* is such a good vector. In: GUBLER, D. G.; OOI, E. E.; VASUDEVAN, S.; FARRAR, J. (ed.). **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**. 2. ed. Wallingford: CABI, 2014. p. 455-480.

RODRIGUES DOS CAMPOS, J. A. **Diversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) com ênfase na fauna de importância epidemiológica da área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2021. 118 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) — Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021.

ROMANOS, M.T. V; SANTOS, N. O. S; WIGG, M. D. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

SANTOS, J. F. B; VIEIRA, J. D. S; COSTA, L. M. L. Educação ambiental no controle da prevenção do *Aedes aegypti*: uma abordagem aos graduandos de Ciências Biológicas no município de Santana do Ipanema – Alagoas. **RCMOS – Rev Científica Multidisciplinar O Saber**, [S. l.], v. 1, n. 9, p. 22-33, 2024.

SCHILTE, C; STAIKOWSKY, F; COUDERC, T; MADEC, Y; CARPENTIER, F; KASSAB, S; ALBERT, M. L; LECUIT, M; MICHAULT, A. Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 7, n. 3, e2137, 2013.

SCOTT, T. W; CLARK, G. G; LORENZ, L. H; AMERASINGHE, P. H; REITER, P; EDMAN, J. D. Detection of Multiple Blood Feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) During a Single Gonotrophic Cycle Using a Histologic Technique. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 94-99, 1993.

SOARES, P. C. F; MEDEIROS, R. L. S. F. M; ARAÚJO, W. A; SILVA, T. C, FERREIRA, L. N. F; ASSIS, E. V; LACERDA, S. N. B; FEITOSA, A. N. A. Vulnerabilidade programática relacionada às doenças causadas pelo *Aedes aegypti*. **Revista de Enfermagem UFPE on line**, Recife, v. 12, n. 10, p. 2753-2758, 2018.

STRAUSS, J. H; STRAUSS, E. G. The alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. **Microbiological Reviews**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 491-562, 1994.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle da dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, [S. l.], v. 18, n. 3, 2002.

TAVEIRA, L. A; FONTES, L. R; NATAL, D. **Manual de diretrizes e procedimentos no controle do *Aedes aegypti***. Ribeirão Preto: Prefeitura Municipal de Ribeirão Preto, 2001.

TAYLOR, G. Animal models of respiratory syncytial virus infection. **Vaccine**, [S. l.], v. 35, n. 3, p. 469-480, 2017.

VALLE, D; BELLINATO, D. F; VIANA-MEDEIROS, P. F; LIMA, J. B. P; MARTINS, A. J. Resistance to temephos and deltamethrin in *Aedes aegypti* from Brazil between 1985 and 2017. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 114, e180544, 2019.

WAHEED, H; ANJUM, M; REHMAN, M; KHAWAJA, A. Investigation of user behavior on social networking sites. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. e0169693, 2017.

WAYMOUTH, H. E; ZOUTMAN, D. E; TOWHEED, T. E. Chikungunya-related arthritis: case report and review of the literature. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, [S. l.], v. 43, p. 273-278, 2013.

WHO – World Health Organization. **Vector-Borne Diseases**. Genebra: WHO, 2024. Disponível em: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases. Acesso em: 20 ago. 2024.

YAMANY, A. S; ADHAM, F. K; ABDEL-GABER, R. Morphological description of the pupa of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) using a scanning electron microscope. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterária e Zootecnia**, [S. l.], v. 76, n. 1, p. 43-54, 2024.

ZARA, A. L. S. A; SANTOS, SM; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S, CARVALHO, R. G; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.





[Voltar ao Sumário](#)

CAPÍTULO 2

ASPECTO DA BIOLOGIA DAS FORMAS IMATURAS DO *Aedes* SPP.: OVOS

Eduardo José de Arruda

Glenda Biasotto Porzani

Raphael Antônio Borges Gomes

Antonio Pancrácio de Souza

Ovos de *Aedes* spp.

As fêmeas de *Aedes aegypti* escolhem por diferentes formas os espaços de reprodução e, depositam seus ovos fixando-os em paredes úmidas, rugosas e escuras, preferencialmente, em superfícies próximas ao nível da água que condicionem um microambiente adequado e com hidratação controlada, que é importante para manutenção da viabilidade do ovo e emergência do embrião (Beserra; Castro Jr, 2008).

Os peridomicílios ou residências que apresentam maiores probabilidade de abrigar ovos e larvas de *Ae. aegypti* são aquelas com menores condições de higiene e nível de educação precário para o controle, incluindo conhecimento e prática de controle populacional do vetor (Gomez; Suarez; Cardenas, 2001; Oliveira; Caprara, 2019).

Estudos podem permitir desenvolvimento de ferramentas de controle mais efetivos a partir dos sinais atrativos ou semioquímicos que influenciem *Ae. aegypti* para a oviposição. Sabe-se que o *Ae. aegypti* é seletivo na escolha dos locais de oviposição (criadouros) e, estes estímulos e conhecimento podem ser utilizados para o desenvolvimento de estratégias, produtos multifuncionais e outros para controle de insetos vetores (Wong *et al.*, 2011). O comportamento de postura de ovos pode impactar de forma dramática na dinâmica populacional, aptidão, controle da extensão, bancos de ovos e distribuição nos ecossistemas que, normalmente, estão relacionados a incidência de doenças viróticas.

O conhecimento das preferências de postura dos mosquitos, por exemplo, permite compreender os mecanismos sensoriais, neurais e outros estímulos que podem orientar os mosquitos fêmeas na decisão de reprodução, incluindo, a presença de larvas de outras espécies ou a densidade larval do criadouro (Gaburro *et al.*, 2018; Gonzalez *et al.*, 2016). Tochor *et al.* (2023) mostram que as análises de médio a alto rendimento da preferência de postura de ovos em superfícies e líquidos estão relacionados a sinais quimiossensoriais de contato distintos (salinidades e outros estímulos complementares).

Isoe, Riehler e Miesfeld (2023), em seus estudos, mostram que o desenvolvimento dos ovos do mosquito pode ser utilizado para a investigação do processo e até da reabsorção folicular para a identificação de proteínas da casca do ovo em mosquitos *Ae. aegypti*. As fêmeas realizam hematofagia em vertebrados para produção de ovos e continuidade do processo reprodutivo. Estudos recentes mostraram que o ovo é um modelo para investigar vias de sinalização e processos fisiológicos no seu desenvolvimento. Vias moleculares diversas regulam firmemente o início do desenvolvimento do ovo por equilíbrio hormonal dos insetos.

As fêmeas grávidas (portadoras de ovos maduros) depositam ovos desenvolvidos no final do ciclo gonotrófico (definido como o intervalo de tempo entre a ingestão do repasto de sangue, a maturação dos ovos e a oviposição). É bastante relevante a duração do ciclo gonotrófico porque determina com qual frequência as fêmeas vão fazer o repasto sanguíneo, o que influencia diretamente na chance de transmissão vetorial (Olivia, 2011).

Isoe e colaboradores (2023) relatam que a casca do ovo do inseto é uma barreira protetiva com composição e estrutura multifuncional para realização das múltiplas funções e viabilidade exigidas no processo reprodutivo (ponto de entrada para os espermatozoides pela micrópila antes da oviposição, superfície de fixação do substrato de oviposição e camada protetora rígida para o desenvolvimento do embrião, regulação de hidratação e temperatura entre outras).

A formação da casca do ovo durante a maturação do folículo ovariano é crítica para o desenvolvimento e viabilidade do embrião e eclosão da larva em meio aquático. A identificação da composição de proteínas da casca do ovo do *Ae. aegypti* pode facilitar a compreensão de processos exógenos, vias moleculares que regulam a formação da casca e até dos mecanismos subsequentes ao desenvolvimento do embrião, incluindo a viabilidade. Isoe e colaboradores (2023) apresentam uma metodologia que pode ser aplicável para diferentes tipos de insetos e permitir a compreensão da formação, funcionalidade, mas principalmente como barreira que deve ser superada para o controle populacional dos insetos a partir do ovo; atividade ovicida; pois os

mosquitos são considerados organismos modelos ao desenvolverem o folículo ovariano e formação da casca do ovo por processos regulados pela alimentação sanguínea, além dos folículos, ao se desenvolverem de forma sincronizada e dependente do tempo na ovogênese.

Estudos podem ser realizados para análise da composição dos ovos, formas, geometrias e outros. Ovos são parâmetros importantes para o conhecimento de aspectos do processo reprodutivo do inseto e considerados para traçar estratégias de controle populacional, a partir desse estágio reprodutivo, para aumentar a eficácia do controle populacional.

Há diferentes relatos quanto ao tamanho dos ovos a depender da espécie, região e condições climáticas. O tamanho dos ovos varia, normalmente, entre 0,6 e 0,7 mm a 1,0 mm (Forattini, 1962; Ferreira, 2014; Consoli; Oliveira, 1994). Estes aspectos relacionados aos ovos são importantes para estabelecimento de estratégias e busca de conceitos para o desenvolvimento de novos (bio)ativos e formulações de inseticidas e/ou ainda adequação de diferentes produtos de controle populacional para o controle populacional devido à competência, habilidade e adaptabilidade do inseto.

Os processos físico-químicos e bioquímicos são importantes para a manutenção da viabilidade dos ovos embrionados. Neste aspecto, também o processo de desidratação (exo) e/ou reservação (endo) da água não é a única ameaça à viabilidade dos ovos e/ou continuidade do ciclo reprodutivo dos insetos. O epitélio extraembrionário, que envolve a gema e o embrião em todos os ovos de insetos, é importante para a viabilidade dos ovos e sua proteção contra diferentes fatores de inviabilização (Jacobs *et al.*, 2013).

A fecundação ocorre durante a postura, e o desenvolvimento do embrião se completa em 48 horas, sob condições favoráveis de umidade e temperatura para o ovo. Os ovos suportam extensos períodos de seca após o desenvolvimento embrionário, e podem persistir na natureza, por até 492 dias; entretanto, a viabilidade reduz drasticamente a partir de 90 dias da oviposição, chegando a quase zero aos 492 dias (Silva; Silva, 1999; Soares-Pinheiro *et al.*, 2016). Estas características permitem que os ovos de *Aedes* spp. possam ser transportados a gran-

des distâncias, em superfícies secas de diferentes formas, contribuindo para a dispersão e disseminação do inseto (Consoli; Oliveira, 1994).

Ainda sobre a diapausa, assim que as condições ambientais voltam a ser favoráveis ao inseto, os ovos começam a eclodir, entretanto, esse evento demora meses porque a eclosão de ovos em diapausa é assíncrona (OECD, 2018).

Os ovos recém-postos são brancos, mas em contato com oxigênio atmosférico, rapidamente adquirem a cor preta brilhante (Forattini, 1962). O processo de oxidação permite aos ovos diferentes funcionalidades, principalmente, proteção e viabilidade para eclosão em um tempo mais oportuno. Pode-se considerar estes aspectos e estratégias como parte importante do sucesso, continuidade na sobrevivência de um inseto relativamente frágil, mas com adaptabilidade e competência vetorial (Forattini, 2002; Honório *et al.*, 2003).

Geralmente, os ovos não são ovipostos na água, mas milímetros acima de sua superfície, principalmente em recipientes artificiais. Quando chove, o nível da água sobe, entra em contato com os ovos que começam em pouco menos de 30 minutos e atingem um pico de eclosão no segundo dia (Consoli; Oliveira, 1994; Soares-Pinheiro *et al.*, 2016). Entretanto, Wermelinger *et al.* (2022) registraram a oviposição diretamente na água em mais de 60% em criadouro artificial no Rio de Janeiro, o que é um dado bastante relevante que se soma à plasticidade comportamental já mencionada anteriormente. Os autores sugerem que a presença de feromônios na água pode estar influenciando esse comportamento de oviposição diretamente na água.

Outra habilidade de extrema importância é a capacidade de se manter em um estado de dormência durante estágio de ovo, chamado de quiescência. Essa adaptação possibilita uma pausa no desenvolvimento do embrião, suspendendo temporariamente a eclosão após o término do desenvolvimento embrionário, especialmente durante o período em que as condições ambientais estão desfavoráveis e aguardando condições favoráveis para a continuidade do ciclo (Fox, 1974; Consoli; Oliveira, 1994; Soares-Pinheiro *et al.*, 2016).

Na etapa de oviposição, como estratégia de sobrevivência, os ovos são distribuídos por diferentes criadouros, com algum preferen-

cialmente, e os demais em menor quantidade, com maior número de ovos nos três primeiros ciclos gonotróficos (Olivia, 2011). Ao utilizar esta estratégia, o inseto garante a dispersão e preservação da espécie nos ambientes reprodutivos sobre diferentes condições.

Foi mostrado que se a fêmea estiver contaminada pelo vírus da dengue ou de doença associadas, após a postura dos ovos, pode ocorrer a contaminação da prole com os vírus por processo de transmissão vertical (Zeidler *et al.*, 2008).

A viabilidade e quiescência de ovos de *Aedes* sp.

Castro e colaboradores (2013) apontaram que as diferenças de ciclos biológicos verificadas entre diferentes populações de *Ae. aegypti* demonstraram a capacidade da espécie de sofrer variações biológicas e se adaptar às diferentes condições ambientais, o que favorece a permanência do inseto nos espaços com aumento do risco de transmissão do vírus da dengue.

Pinto *et al.* (2019) e Prasad *et al.* (2023a) afirmam que os recursos genéticos da espécie, sob condições climáticas e/ou ambientais, que induzem o processo de adaptação do *Ae. aegypti*, tem permitido sua disseminação por ampla distribuição geográfica, mesmo que em condições ambientais não favoráveis à espécie. A disponibilidade de criadouros, preferências e adaptabilidade permitem a sobrevivência e dispersão dos insetos.

O *Ae. aegypti* tem distribuição ampla e a viabilidade dos ovos por meses é, sem dúvida, uma das principais características que favorecem a dispersão e sobrevivência da espécie nestes ambientes e condições diferenciadas dos espaços colonizados (Gubler, 1998; Forattini, 2002). A **Figura 1** mostra a constituição dos ovos do gênero *Aedes* spp.

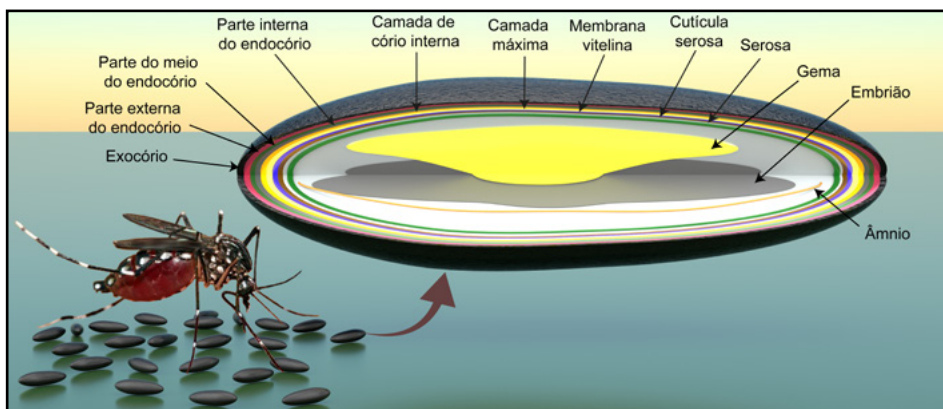
O tempo de quiescência dos ovos é sempre lembrado como acima de 450 dias, entretanto, é importante lembrar que a viabilidade caiu muito com o tempo. Por exemplo, Soares-Pinheiro e colaborado-

res (2016), observaram que a viabilidade permaneceu alta em experimento na Amazônia até o quarto mês, quando começou a cair muito, chegando aos 3% com 272 dias. Ainda, os ovos eclodiram, na sua maioria, no segundo dia (mais de 70%).

Yang (2014) e Olivia *et al.* (2018) reforçam a hipótese que ovos quiescentes, que estão nos criadouros como banco de ovos para emergência e continuidade da espécie, são parte importante do problema de saúde pública que precisam ser considerados, pois afeta direta ou indiretamente o sucesso dos programas de controle, a dinâmica populacional, a capacidade do vetor e a competência dos mosquitos.

Estudos complementares relacionados à quiescência tem avaliado a influência de fatores ambientais como: disponibilidade de umidade na diapausa em *Culicidae*, enfocando as características da água como um fator determinante para a escolha de criadouros pelas fêmeas dos mosquitos e/ou como estratégias adaptativas para a sobrevivência durante a estação seca (Silva; Silva, 1999).

Figura 1 - Constituição e partes dos ovos de *Aedes* spp.

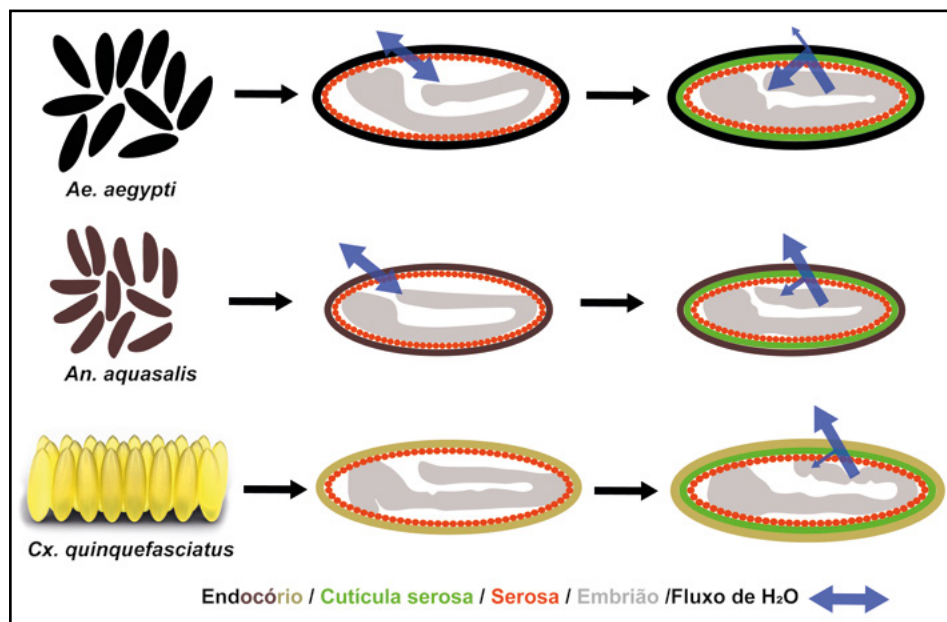


Fonte: Raphael Antônio Borges Gomes, Laboratório de Bromatologia, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto.

A **Figura 2** mostra imagens para diferentes insetos (*Aedes*, *Anopheles* e *Culex*), suas estratégias de oviposição, dinâmica da reprodução no desenvolvimento do embrião, a importância dos criadouros

e até geometria dos ovos para a viabilidade e eclosão; além de outros fatores de implicação. Ainda podemos observar na fase final do ovo o efeito da melanização.

Figura 2 - Morfologia embrionária para cada estágio das espécies, atividade e permeação da água livre pela casca do ovo.



Fonte: Adaptado de Vargas et al., 2014.

Embora não seja explicado filogeneticamente a conservação de ambas as características: a resistência à dessecação embrionária (RDE) e a formação da cutícula serosa (FCS) nos ovos dos culicídeos, estudos comparativos entre gêneros como aqueles feitos por Vargas et al. (2014) acrescentam para o alcance desse entendimento. Eles observaram que a RDE foi concluída mais precocemente em *Culex quinquefasciatus* (34,3 horas), seguido de *Anopheles aquasalis* (51,3 horas) e *Ae. aegypti* 77,4 horas aos 25°C. Em todos os casos, a RDE foi adquirida junto com a FCS. Tanto em *Ae. aegypti* como em *An. aquasalis* os dois aspectos, RDE e FCS, apareceram aos 21% do desenvolvimento

embrionário, enquanto que em *Cx. quinquefasciatus* apareceram aos 35% do desenvolvimento embrionário. Os autores sugerem que o desenvolvimento da serosa é, pelo menos parcialmente desacoplado do desenvolvimento embrionário e que, dependendo da espécie de mosquito, a RDE confere níveis distintos de viabilidade dos ovos.

Estudos em mosquitos demonstraram que o nível de melanização da casca do ovo está associado à viabilidade do ovo fora da água após a formação da cutícula serosa. A decodificação da associação entre a coloração do ovo e a resistência à dessecação é parte relevante para estudos sobre ecologia e evolução de mosquitos e outros insetos. Os ovos mais escuros de mosquitos resistem mais a condições de seca: a melanina aumenta a contribuição da cutícula serosa na resistência do ovo à dessecação em vetores *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (Rezende *et al.*, 2016; Farnesi *et al.*, 2017).

Farnesi e colaboradores (2017) relatam que em todas as espécies, antes da formação da cutícula serosa, a água permeia livremente pela casca do ovo. A formação da cutícula serosa diminuiu a passagem de água pela casca do ovo de maneira diferencial e relacionada a cor: enquanto em *Ae. aegypti*, com endocório preto, a maior parte da água fica retida dentro do ovo, em *An. aquasalis*, com endocório marrom-escuro, parte da água é retida dentro do ovo, mas não toda. Finalmente, em *Cx. quinquefasciatus*, com endocório castanho-claro / bronzeado claro, a maior parte da água escapa e apenas uma pequena parte fica retida no interior do ovo.

A morfologia embrionária descrita é representativa para cada estágio e as espécies e os tamanhos dos ovos entre as espécies são representados em sua proporção natural. Para simplificar, a camada mais externa da casca do ovo (o exocório) e a outra membrana extraembrionária (o âmnio) não estão representadas aqui. O exocório não participa da RDE (Vargas *et al.*, 2014).

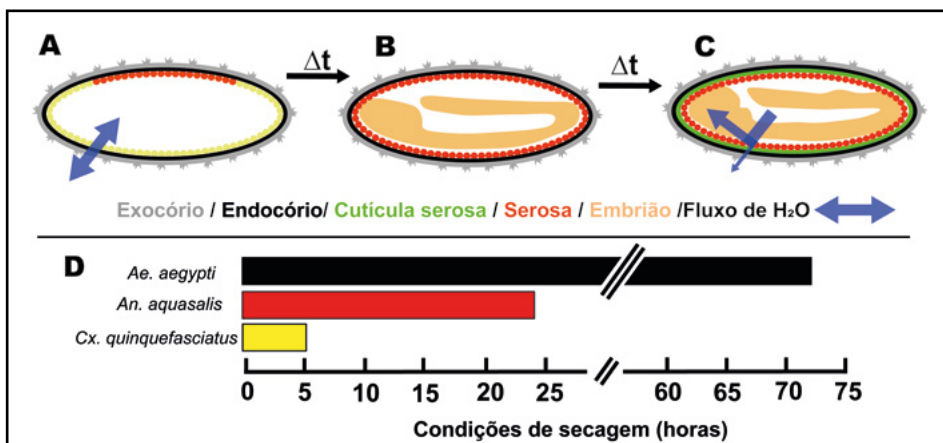
O tamanho e a massa do ovo variam entre o *Ae. aegypti*, *An. aquasalis*, *Cx. quinquefasciatus* mostrando que há diferenças significantes entre os ovos dos mosquitos. O aspecto da superfície do endocório externo varia entre os ovos. A quitina presente na cutícula serosa dos

mosquitos, tende a variar entre as espécies. Os ovos com mais quitina resistem mais à dessecação (Forattini, 2002; Rezende *et al.*, 2016).

Rezende *et al.* 2016 mostraram por uma revisão bibliográfica para mais de 40 espécies, descrição da formação, estrutura e fisiologia das estruturas multicamadas e multirregionais, além dos mecanismos celulares e moleculares relacionados às estruturas no ovo. Os artrópodes e a maioria dos insetos ovipõe sem cuidado parental, mas nos ovos existem várias camadas que contém o embrião e, estas devem permitir o desenvolvimento e sobrevivência do embrião aos estresses bióticos e abióticos (dessecação, inundações, predadores, agentes patogênicos e outros). Estas camadas/membranas protetoras devem permitir desde a entrada dos espermatozoides, realizar trocas gasosas e hidratação. Na oogênese do inseto, estas camadas são depositadas pelas células foliculares (membrana vitelina, camada cerosa, camada coriônica mais interna, endocórion e exocórion). As células foliculares produzem regiões com complexidades coriônicas, como micrópilas, aerópilas e opérculo. A partir da fertilização e deposição de ovos pelo inseto, ocorre o desenvolvimento do mesmo. Nos artrópodes existe uma cutícula blastodérmica ou serosa, localizada abaixo da membrana vitelina como uma estrutura extracelular de proteção adicional.

Pode-se perceber, para a manutenção da viabilidade dos ovos, a importância das membranas internas no desenvolvimento do embrião (fluxo de água/hidratação, fragilidade/viabilidade e outros) (**Figura 3**).

Figura 3 - Membranas internas, desenvolvimento do embrião e fluxo e reservação da água no desenvolvimento do embrião em *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis* e *Culex quinquefasciatus*.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Farnesi et al., 2015.

Os ovos de mosquitos são colocados em ambiente com água (úmido), mas ovos recém-postos são ainda suscetíveis à desidratação, se o ambiente circundante secar nas primeiras horas de desenvolvimento. As dinâmicas de superfícies e membranas de revestimento do ovo para a hidratação/desidratação são diferentes para os insetos (*Ae. aegypti*, *An. aquasalis* e *Cx. quinquefasciatus*) (Farnesi et al., 2015).

A resistência à dessecação é determinada pela taxa de perda de água, tolerância à desidratação e quantidade total de água de um determinado organismo. A variabilidade da RDE observada entre os mosquitos provavelmente deriva de diversos traços. A presença de quitina especificamente na cutícula serosa, bem como aspectos da superfície externa do endocório, também foram investigados e, embora os dados sugiram que a quantidade de quitina na casca do ovo é relevante para a impermeabilidade do ovo, a participação de outros atributos da casca do ovo ainda não identificados deve ser considerada a fim de contabilizar as diferenças nos níveis de RDE observados entre *Ae. aegypti*, *An. aquasalis* e *Cx. quinquefasciatus* (Forattini, 2002; Farnesi et al., 2015).

Os ovos do inseto com camada serosa são capazes de ativar genes imunológicos. Já os ovos sem a camada serosa são incapazes de ativar tais genes. A presença dessa camada nos ovos dos insetos permite uma defesa imunológica contra patógenos na superfície do ovo (Jacobs; Van Der Zee, 2013; Jacobs; Spaink; Van Der Zee, 2014).

Formação e a funcionalidade da cutícula serosa

O ovo é utilizado na literatura para descrever diferentes e sucessivos estágios no desenvolvimento do inseto, incluindo o oócito maduro, a célula zigoto e o embrião em desenvolvimento protegido interno ao ovo. A casca do ovo é uma proteção eficiente que permite a viabilidade e o desenvolvimento do embrião. Assim, o ovo torna-se o foco para o controle eficiente. Conhecê-lo a partir dos detalhes, incluindo a parte bioquímica e geometria torna-se parte interessante para traçar estratégias mais eficientes de controle populacional (Hinton, 1981; Church *et al.*, 2019).

Segundo revisão de Schmidt (2005) o fato de as membranas extraembrionárias promoverem proteção contra infecção e dessecação favoreceu a adaptação dos insetos em diferentes tipos de criadouros; sendo portanto, de extremo interesse do ponto de vista evolutivo.

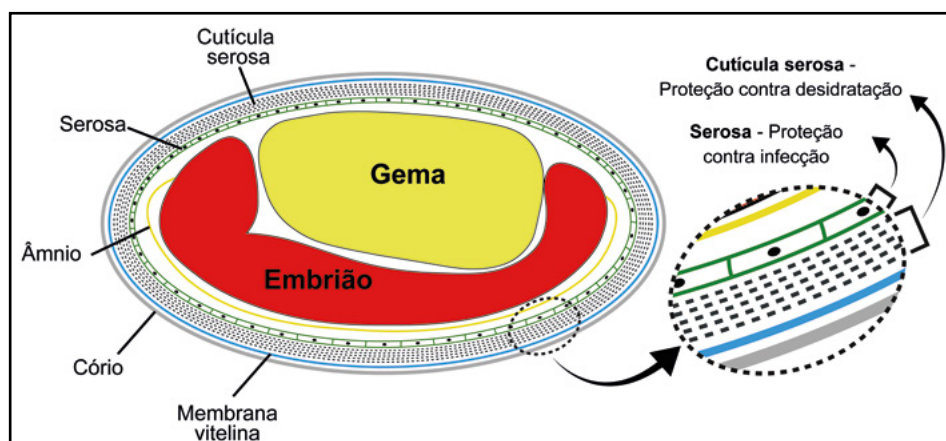
Jacobs e colaboradores (2013) comprovaram a função crucial da cutícula serosa na resistência à dessecação. Os autores chegaram a afirmar que a origem dessa membrana extraembrionária facilitou a espetacular radiação dos insetos terrestres, da mesma forma que foi a origem dos ovos amnióticos para invasão terrestre dos vertebrados.

Os insetos são espécies extraordinariamente bem-sucedidas na colonização de habitats terrestres. O sucesso da colonização se deve, em parte, a uma cutícula protetora composta de quitina e proteínas. A cutícula em larvas e adultos possuem funcionalidades diferentes, mas pouca atenção é dada à cutícula do ovo do inseto. A cutícula secreta pela serosa, um epitélio extraembrionário que envolve a gema e o

embrião em todos os ovos de insetos, foi perdida nas moscas esquizo-foranas, às quais pertence a *Drosophila* (Jacobs *et al.*, 2015).

Na **Figura 4** destacamos a atividade protetiva e biológica da camada serosa, evidenciadas contra infecção e desidratação em ovos de insetos. Jacobs *et al.* (2015) sugeriram que a cutícula serosa do ovo dos insetos utiliza o mesmo mecanismo de estruturação da cutícula serosa dos adultos e que essa estrutura é para resistência a dessecação.

Figura 4 - A funcionalidade da cutícula serosa contra infecção e desidratação em ovos de insetos.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Jacobs *et al.*, 2015.

Os ovos de *Aedes* podem sobreviver em ambientes secos, entretanto, os ovos possuem funcionalidades a partir de princípios moleculares e celulares que permitem a sobrevivência do embrião submetido à dessecação, mas não são plenamente conhecidos (Vargas *et al.*, 2014). Prasad e colaboradores (2023b) mostraram que os ovos de *Ae. aegypti*, em contraste com *An. stephensi*, adquirem tolerância à dessecação na fase tardia do desenvolvimento. As alterações de proteoma e estado metabólico na dessecação, estão relacionados a redução do metabolismo do carbono, produção de poliamina e utilização de lipídios para a energia e síntese de poliamina. Os estudos utilizaram inibidores dos

processos em mosquitos alimentados com sangue (hematofagia) e oviposição para inferir em processos de duas etapas relacionadas a tolerância de dessecação dos ovos de *Aedes*. O processo metabólico considera a quebra lipídica e o acúmulo dependente de poliamina que confere resistência à dessecação dos ovos. A quebra lipídica é rápida e necessária para atender as necessidades energéticas após a reidratação, emergência das larvas e sobrevivência da espécie.

Os ovos de insetos possuem diversidade de formas, tamanhos e funcionalidades. As descrições de ovos na literatura entomológica não são sistematicamente compiladas entre os insetos. A comparação dos tamanhos dos ovos entre os insetos permite determinar informações básicas como as diferenças existente de tamanhos dos ovos dos insetos ou a relação entre o tamanho e a ecologia ou até o desenvolvimento. Estes dados podem ser relacionados em um conjunto de dados de parâmetros quantitativos que permitam descrever a morfologia do ovo. Os dados podem ser coletados de registros publicados, incluindo as medições relatadas em descrições de texto de ovos de insetos ou por medições de imagens produzidas ou publicadas (Smith; Fretwell, 1974; Berrigan, 1991; Bernardo, 1996).

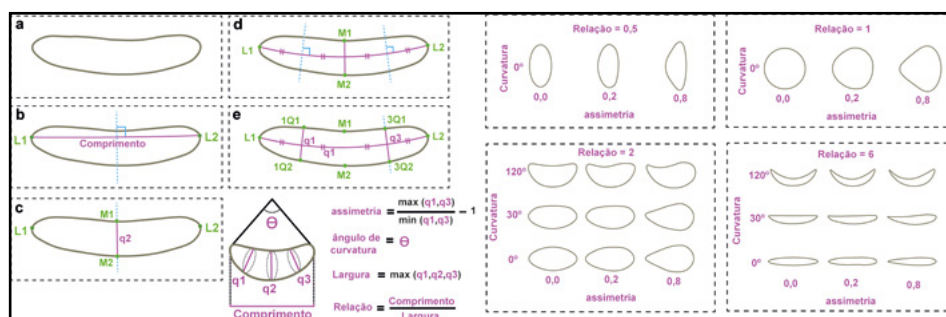
Do ponto de vista do organismo parental, o tamanho do propágulo (ovo) é um componente do investimento do metabolismo da fêmea para a prole, e o tamanho do propágulo (ovo), a geometria e estratégias protetivas devem ser positivamente correlacionadas com o tamanho do corpo adulto e negativamente correlacionado com o número de propágulos (ovos). Do ponto de vista da prole, o tamanho do propágulo (ovo) é relevante para os recursos utilizados para o desenvolvimento embrionário e pode impactar a história de vida e as interações ecológicas envolvidas no processo reprodutivo e sobrevivência da planta e do inseto (Fox; Czesak, 2000; Blackburn, 1990).

As hipóteses evolutivas têm sido propostas para explicar os padrões na diversidade do tamanho dos propágulos (ovos), mas a robustez ou generalidade dos próprios padrões raramente foram testados entre as espécies. Para compreender as forças evolutivas que impulsionam a evolução do tamanho do propágulo, precisamos de descri-

ções confiáveis e em grande escala da distribuição do tamanho do propágulo na árvore evolucionária (Berrigan, 1991; Bernardo, 1996).

Church e colaboradores (2019), através de software, demonstraram a precisão e medição os detalhes de geometria dos ovos. No trabalho pode-se examinar as interações entre os parâmetros geométricos e de forma com a precisão do software de medição de imagem por uma matriz de 24 silhuetas de ovos simuladas com combinações de valores de parâmetros conhecidos. As medições foram realizadas em quintuplicata, com a ferramenta de medição de imagem customizada para cálculo e determinação da razão de aspecto, assimetria e o ângulo de curvatura (**Figura 5**).

Figura 5 - Medições e relações para determinação de razão, curvatura, assimetria e forma de ovos a partir das suas formas geométricas.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Church et al., 2019.

O tamanho da prole é uma característica fundamental em campos de estudo biológico díspares, por exemplo em animais e plantas. A característica pode ser medida como o tamanho de sementes de plantas, ovos de animais ou filhotes vivos, e estas podem influenciar as interações ecológicas, a aptidão do organismo, o investimento materno/participação da fêmea e o desenvolvimento embrionário a partir dos detalhes e pontos específicos considerados no estudo. A distribuição filogenética do tamanho da prole permanece mal compreendida, devido à dificuldade de coletar e comparar dados de tamanho da prole de

muitas espécies de forma confiável (Church *et al.*, 2019; Fox; Czesak, 2000).

Church *et al.* (2019) apresentou um conjunto de dados de 10.449 descrições morfológicas de ovos de insetos, com registros de 6.706 espécies únicas de insetos e representantes de todas as ordens hexápodes existentes ou conhecidas. O conjunto de dados inclui ovos cujos volumes abrangem mais de oito ordens de magnitude (8x). Os táxons do conjunto de dados foram relacionados aos nomes científicos aceitos em bancos de dados taxonômicos e genéticos, que podem facilitar o uso dos dados para teste de hipóteses evolutivas imediatas na evolução do tamanho da prole.

A geometria e detalhes podem ser conhecidos por medições próximas do momento da fertilização, principalmente, na literatura quando várias descrições estavam disponíveis, considerando que em alguns insetos foi documentado que as dimensões do ovo se alteram ao longo do tempo (até 20% de mudança em comprimento, devido à troca de água durante o desenvolvimento embrionário) (Hinton, 1981; Kobayashi, 1998; Chaves *et al.*, 2003; Donoughe; Extavour, 2016; Rezende *et al.*, 2016; Church *et al.*, 2019). Na maioria dos insetos, o ovo é colocado fora do corpo adulto, ficando sujeito a condições variáveis e não favoráveis. O ovo é envolvido por uma casca protetiva segregada chamada córion (Rezende *et al.*, 2016), que pode ter ou não elaborações (por exemplo, apêndices dorsais ou opérculos) (Hinton, 1969). Todas estas características, além das medições dos ovos incluíram elaborações coriônicas para comparações entre as diferentes espécies analisadas (Church *et al.*, 2019).

Conclusões

Não se pode ignorar que no processo adaptativo às superfícies, geometria, composição, grupos funcionais e conteúdos extra e intracelulares estão relacionados aos processos e até aos fenômenos superfícies dos estágios reprodutivos. Este aspecto deve ser percebido e

investigado a partir de evidências e, de forma continuada. Busca-se de forma objetiva a discussão de aspectos que estejam associados para o entendimento, mecanismos de proteção e superação das dificuldades que estejam relacionadas à permeabilidade, acesso, toxicidade e outras atividades físico-químicas ou até biológicas para maior eficiência dos inseticidas, incluindo a inviabilização do embrião e dificultar o processo de reprodução. Todos estes parâmetros podem ser entendidos e até considerados indicadores ou marcadores dos processos adaptativos, funcionalidades e/ou estratégias reprodutivas com vista ao controle da espécie a partir dos processos adaptativos, sobrevivência e, continuidade do processo que possuam vantagens adicionais para a reposição populacional para a permanência e incidência das doenças por transmissão vetorial. Neste aspecto, pode-se considerar que estas superfícies, composições, morfologias e o involucro dos ovos guardam estreita relação com a sobrevivência e viabilidade da espécie na forma imatura. Os detalhes constitucionais são importantes para o controle populacional a partir do processo reprodutivo. As alterações e/ou funcionalidades complementam o conhecimento e pode permitir um controle mais eficiente, desenvolvimento de estratégias e produtos mais eficientes para um controle populacional com maior eficácia e biossegurança.

Referências

- BERNARDO, J. The particular maternal effect of propagule size, especially egg size: patterns, models, quality of evidence and interpretations. **American Zoologist**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 216-236, 1996.
- BERRIGAN, D. The allometry of egg size and number in insects. **Oikos**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 313-321, 1991.
- BESERRA, E. B; CASTRO Jr, F. P. D. E. Biologia comparada de populações de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. **Neotropical Entomology**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 81-85, 2008.
- BLACKBURN, T. M. **Comparative and experimental studies of animal life history variation**. 1990. 394 f. PhD Thesis — University of Oxford, Oxford, 1990.
- CASTRO Jr., F. P; MARTINS, W. F. S; LUCENA FILHO, M. L. D; ALMEIDA, R. P. D; BESERRA, E. B. Ciclos de vida comparados de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) do semiárido da Paraíba. **Iheringia, Série Zoologia**, [S. l.], v. 103, n. 2, p. 118-123, 2013.
- CHAVES, L. F; RAMONI-PERAZZI, P; LIZANO, E; AÑEZ, N. Morphometrical changes in eggs of *Rhodnius prolixus* (Heteroptera: Reduviidae) during development. **Entomotropica**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 83-88, 2003.
- CHURCH, S. H; DONOUGHE, S; DE MEDEIROS, B.A. S; EXTAVOUR, C. G. A dataset of egg size and shape from more than 6,700 insect species. **Scientific Data**, [S. l.], v. 6, p. 104, 2019.
- CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p.
- DONOUGHE, S; EXTAVOUR, C. G. Embryonic development of the cricket *Gryllus bimaculatus*. **Developmental Biology**, [S. l.], v. 411, n. 1, p. 140-156, 2016.

FARNESI, L. C; MENNA-BARRETO, R. F. S; MARTINS, A. J; VALLE, D; REZENDE, G. L. Physical features and chitin content of eggs from the mosquito vectors *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis* and *Culex quinquefasciatus*: connection with distinct levels of resistance to desiccation. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 83, p. 43-52, 2015.

FARNESI, L. C; VARGAS, H. C. M; VALLE, D; REZENDE, G. L. Darker eggs of mosquitoes resist more to dry conditions: melanin enhances serosal cuticle contribution in egg resistance to desiccation in *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* vectors. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 1-20, 2017.

FERREIRA, L. C. F. **Culicídeos vetores**: diferenças e semelhanças fisiológicas e estruturais relacionadas ao processo de resistência dos ovos à dessecação. 2014. 117 f. PhD Thesis, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

FORATTINI, O. P. Arboviroses. **Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 16, p. 109-199, 1962.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica, vol. 2**: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: EDUSP, 2002. 864p.

FOX, I. Viability of Puerto Rican: *Aedes aegypti* eggs after long periods of storage. **Mosquito News**, [S. l.], v. 34, n. 3, p. 274-275, 1974.

FOX, C. W; CZESAK, M. E. Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 45, p. 341-369, 2000.

GABURRO, J; PARADKAR, P. N; KLEIN, M; BHATTI, A; NAHAVANDI, S; DUCHEMIN, J. B. Dengue virus infection changes *Aedes aegypti* oviposition olfactory preferences. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, p. 13179, 2018.

GOMEZ, F. E; SUAREZ, C. M. H; CARDENAS, R. C. Factores que modificam los índices larvários de *Aedes aegypti* en Colima, México. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 6-12, 2001.

GONZALEZ, P. V; GONZÁLEZ, AUDINO P. A; MASUH, H. M. Oviposition behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in response to the presence of heterospecific and conspecific larvae. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 268-272, 2016.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

HINTON, H. Respiratory systems of insect egg shells. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 14, p. 343-368, 1969.

HINTON, H. E. **Biology of Insect Eggs**. Oxford: Pergammon, 1981. v. I-III, 473p.; 778p.; 1125p.

HONÓRIO, N. A; SILVA, W. C; LEITE, P. J; GONÇALVES, J. M; LOUNIBOS, L. P, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 2, p. 191-198, 2003.

ISOE, J; RIEHLE, M. A; MIESFELD, R. L. Mosquito egg development and eggshell formation. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S. l.], v. 13, 2023.

ISOE, J; PARSAWAR, K; DAVID, C. L; RIEHLE, M. A; MIESFELD, R. L. Identification of mosquito eggshell proteins from *Aedes aegypti* by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) proteomic analysis. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S. l.], v. 13, 2023.

JACOBS, C. G. C; REZENDE, G. L; LAMERS, G. E. M; VANDER ZEE, M. The extraembryonic serosa protects the insect egg against desiccation. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 280, p. 1764, 2013.

JACOBS, C. G. C; SPAINK, H. P; VAN DER ZEE, M. The extraembryonic serosa is a frontier epithelium providing the insect egg with a full-range innate immune response. **ELife**, [S. l.], v. 3, p. 4111, 2014.

JACOBS, C. G. C; VAN DER ZEE, M. Immune competence in insect eggs depends on the extraembryonic serosa. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 263-269, 2013.

JACOBS, C. G. C; BRAAK, N; LAMERS, G. E. M; VAN DER ZEE, M. Elucidation of the serosal cuticle machinery in the beetle *Tribolium* by RNA sequencing and functional analysis of Knickkopf1, Retroactive and Laccase2. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 60, p. 7-12, 2015.

KOBAYASHI Y. Embryogenesis of the fairy moth, *Nemophora albiguttella* Issiki (Lepidoptera, Adelidae), with special emphasis on its phylogenetic implications. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 157-166, 1998.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Reproductive biology of the mosquito *Ae. aegypti*. In: **Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment**. Paris: OECD, 2018.

OLIVA, L. O. **Distribuição dos ovos em *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae)**: efeito da idade da fêmea, posturas prévias e tipo de criadouro. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) — Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

OLIVA, L. O; LA CORTE, R; SANTANA, M. O; ALBUQUERQUE, C. M. R. Quiescence in *Aedes aegypti*: interpopulation differences contribute to population dynamics and vectorial capacity. **Insects**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 111, 2018.

OLIVEIRA, K. K. F; CAPRARA, A. Face social do controle do *Aedes*: em um bairro periférico de Fortaleza, Brasil, as mulheres tomam a palavra. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S. l.], v. 24, n. 8, p. 2983-2992, 2019.

PINTO, J; PALOMINO, M; MENDOZA-URIBE, L; SINTI, C; LIEBMAN, K. A; LENHART, K. Susceptibility to insecticides and resistance mechanisms in three populations of *Aedes aegypti* from Peru. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 12, p. 494, 2019.

PRASAD, P; LATA, S; GUPTA, S. K; KUMAR, P; SAXENA, R; ARYA, D. K; SINGH, H. *Aedes aegypti* container preference for oviposition and its possible implications for dengue vector surveillance in Delhi, India. **Epidemiology and Health**, [S. l.], v. 45, p. 2023073, 2023a.

PRASAD, A; SREEDHARAN, S; BAKTHAVACHALU, B; LAXMAN, S. Eggs of the mosquito *Aedes aegypti* survive desiccation by rewiring their polyamine and lipid metabolism. **PLoS Biology**, [S. l.], v. 21, n. 10, p. 3002342, 2023b.

REZENDE, G. L.; VARGAS, H. C. M.; MOUSSIAN, B.; COHEN, E. Composite eggshell matrices: Chorionic layers and sub-chorionic cuticular envelopes. In: Cohen E, Moussian B (eds.). **Extracellular Composite Matrices in Arthropods**. Cham: Springer, 2016. p. 325-366.

SCHMIDT-OTT, U. Insect serosa: a headline in comparative developmental genetics. **Current Biology**, [S. l.], v. 15, n. 7, p. R245-R247, 2005.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 349-355, 1999.

SMITH, C. C.; FRETWELL, S. D. The optimal balance between size and number of offspring. **The American Naturalist**, [S. l.], v. 108, n. 962, p. 499-506, 1974.

SOARES-PINHEIRO, V. C.; DASSO-PINHEIRO, W.; TRINDADE-BEZERRA, JM.; TADEI, W. P. Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, [S. l.], v. 77, n. 2, p. 396-401, 2016.

TOCHOR, N. K.; MOHAMMED, Y. G.; MATTHEWS, B. J. Evaluating egg-laying preference of individual *Aedes aegypti* mosquitoes. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S. l.], v. 7, p. 108341, 2023.

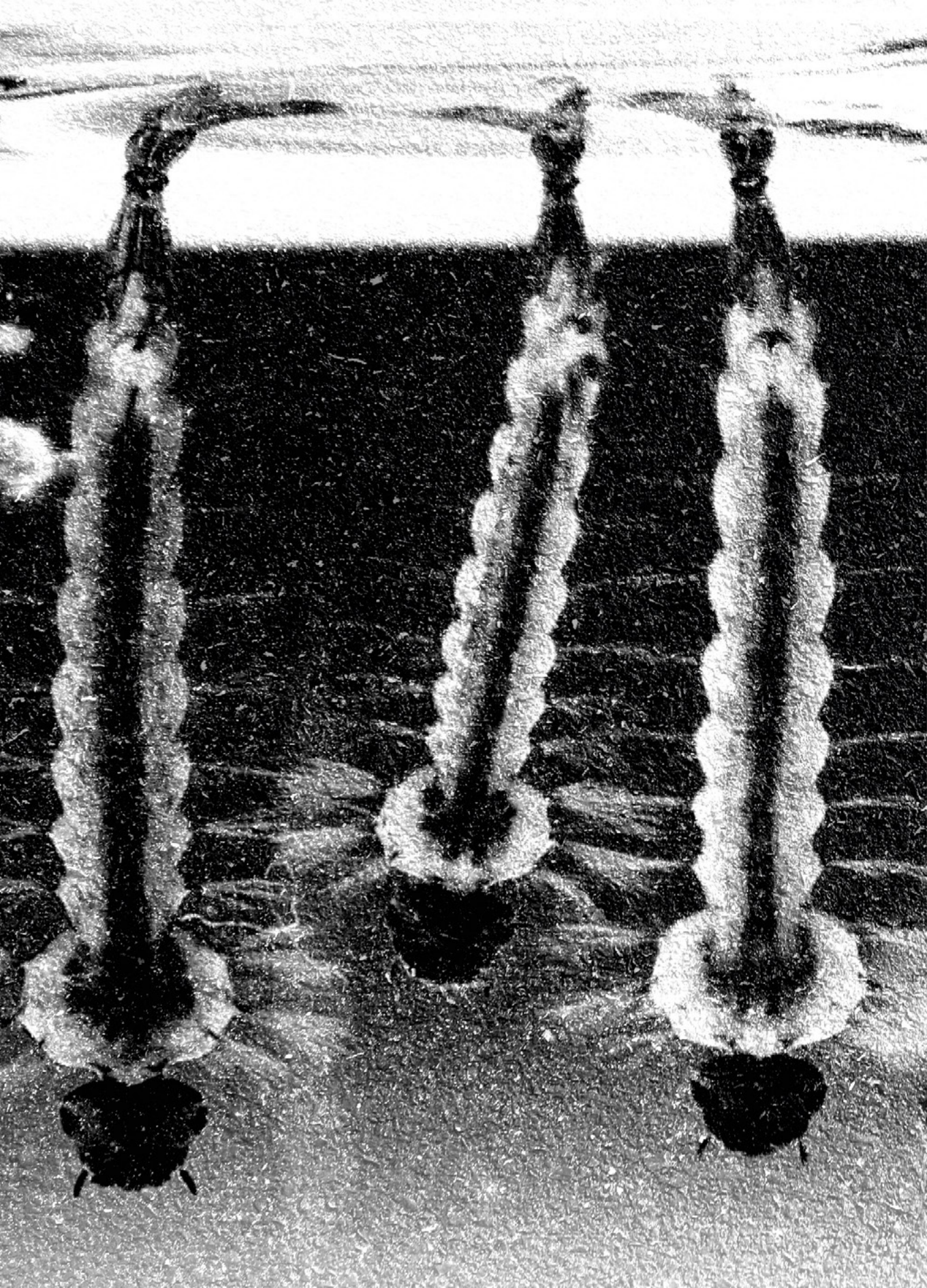
VARGAS, H. C. M.; FARNESI, L. C.; MARTINS, A. J.; VALLE, D.; REZENDE, GL. Sero-sal cuticle formation and distinct degrees of desiccation resistance in embryos of the mosquito vectors *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis*, and *Culex quinquefasciatus*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 62, p. 54-60, 2014.

WERMELINGER, E. D.; FERREIRA, A. P.; BENIGNO, C. V.; MEIA, A. M. Pre-oviposition behavior of *Aedes aegypti* in the field: first report of eggs laying on water surface in an artificial breeding site in the city of Rio de Janeiro. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 51, n. 3, p. 235-240, 2022. DOI: 10.5216/rpt.v51i3.70960. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/70960>. Acesso em: 13 jun. 2024.

WONG, J; STODDARD, S. T; ASTETE, H; MORRISON, A. C; SCOTT, T. W. Oviposition site selection by the dengue vector *Aedes aegypti* and its implications for dengue control. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 5, n. 4, e1015, 2011.

YANG, H. Assessing the influence of quiescence eggs on the dynamics of mosquito *Aedes aegypti*. **Applied Mathematics**, [S. l.], v. 5, p. 2696-2711, 2014.

ZEIDLER, J. D; ACOSTA, P. O. A; BARRÊTO, P. P; CORDEIRO, J. S. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 986-991, 2008.





CAPÍTULO 3

PRODUTOS E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE POPULACIONAL DE INSETOS VETORES

Eduardo José de Arruda

Glenda Biasotto Porzani

Delfin Sanchez Sánchez

Bruna Fernanda Rodrigues Martins

Aujenus Albert Msumange

Janaine Alberto Marangoni Faoro

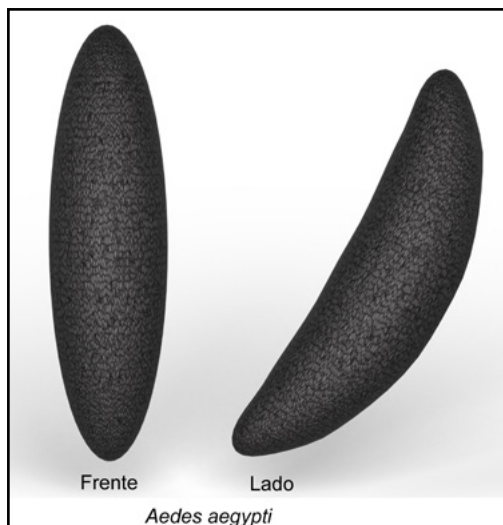
Anelise Samara Nazari Formagio

Introdução

O conhecimento dos hábitos dos insetos e até das funcionalidades e características das estruturas das formas imaturas, i.e. o ovo de *Aedes* spp. podem ser utilizadas para novas formulações e propostas de produtos inseticidas. A partir das características e análise fundamentada desses estágios imaturos podem ser utilizados, por evidências, que permitam análise a partir dos ovos que podem repor a população do inseto e densidade populacional ao se considerar, por exemplo, no ovo, maiores volumes em menor área contida ou superfície de contenção, o espaço tridimensional (3D), composição e funcionalidade das partes.

Atualmente, busca-se análise com foco no controle ovicida a forma para controle com maior eficiência, pois é a forma imatura mais resistente que se conhece. Na análise de partes, pode-se, por exemplo, realizar a análise de deformação e modificações de membranas internas pode ser vantajosa para obtenção de diferentes detalhes e funcionalidades, incluindo a proteção, empacotamento e empilhamento dos mesmos (**Figura 1**) (Mundim-Pombo *et al.*, 2021). Nas formas imaturas (ovos e larvas), detalhes e aspectos como formas geométricas podem ser percebidos e pensados na busca de maiores (bio)atividades, atividades moleculares inteligentes e/ou funcionalidades, incluindo aspectos dos trabalhos e mobilidades moleculares ou ainda de novas atividades e/ou funcionalidades de novos inseticidas, estratégias ou produtos biológicos que possam ser utilizados para controle de insetos vetores, i.e. sempre a partir da atividade biológica, funcionalidades, geometrismos, hábitos e comportamentos do inseto que estão envolvidos ou percebidos nos processos reprodutivos e de sobrevivência da espécie alvo (Jin; Feng; Xu, 2013; Hilton, 1969; Rezende *et al.*, 2016).

Figura 1 - Ovos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

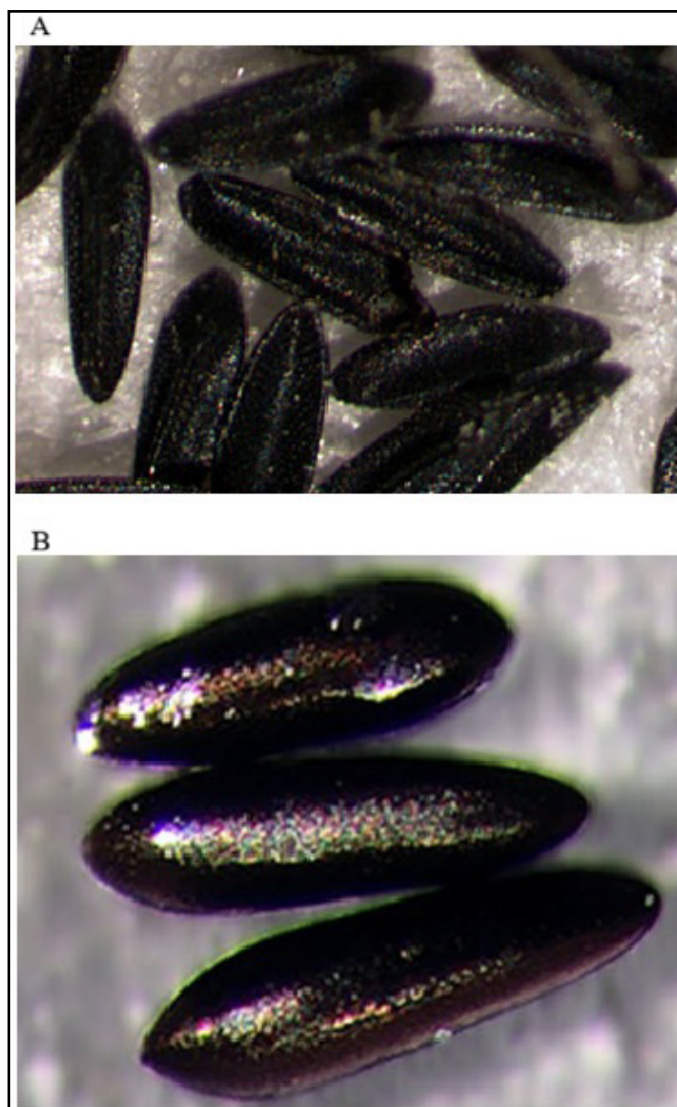


Fonte: Raphael Antônio Borges Gomes, Laboratório de Bromatologia, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, 2021.

Muitos são os fatores de influência na oviposição. Segundo Mosquera e colaboradores (2023), as fêmeas grávidas influenciam na composição da comunidade microbiana associada a um criadouro, promovendo certos táxons bacterianos sobre aqueles predominantes no ambiente. A presença de simbiossomas de mosquitos conhecidos podem melhorar a aptidão da prole se estiverem presentes na água onde os ovos são postos. Os autores consideraram esta comunidade bacteriana mediada pela oviposição como uma forma de construção de nicho iniciada pela fêmea grávida.

Na **Figura 2** mostram-se aspectos e características dos ovos do gênero *Aedes* spp. Para a espécie *Aedes* spp., os ovos adquirem resistência ao ressecamento rapidamente escurecendo (Farnesi *et al.*, 2017) em até 15 horas após a postura e podem resistir a longos períodos de dessecação até 450 dias, segundo estudos da literatura, apesar da perda de viabilidade com o tempo (Prasad *et al.*, 2023).

Figura 2 - Ovos de *Aedes* spp.



Fonte: Mundim-Pombo *et al.*, 2021; Vieira/IOC/Fiocruz, 2025.

A pigmentação influencia o equilíbrio hídrico dos ovos, mas é relevante para entendimento da história evolutiva da espécie. A coloração dos ovos ou pigmentação da casca do ovo e da cutícula adulta pode garantir a sobrevivência dos insetos em diferentes condições. Assim, a estratégia deve ser considerada em relação à aptidão das

espécies e estratégias de sobrevivência, permitindo entendimento e novas abordagens para o controle de insetos vetores ou até pragas. Entretanto, há controvérsias a respeito do período de viabilidade dos ovos. A resistência a dessecação é sempre uma vantagem complementar de sobrevivência do inseto. A melanização e escurecimento permitem que os ovos sobrevivam por meses, e até anos, em ambientes secos, até a reidratação em período úmido e quente, para a eclosão da espécie e reprodução para a continuidade da espécie (Brasil, 2009; Forattini, 2002; Serrano *et al.*, 2016).

Em condições favoráveis de umidade e temperatura, o desenvolvimento do embrião do mosquito é concluído em até 72 horas (Consoli; Oliveira, 1994). A resistência à dessecação é uma estratégia de sobrevivência da espécie e permite que os ovos sejam transportados a grandes distâncias, em recipientes secos e protegidos. Esse é um aspecto importante do ciclo de vida do mosquito, que demonstra a necessidade de novos conhecimentos e tecnologias de combate, complementares e/ou adicionais ao controle nos criadouros, nas diferentes estações do ano (Hilton, 1969; Rezende *et al.*, 2016).

Apesar da grande dispersão do inseto, faltam dados sobre o período de viabilidade dos ovos em regiões tropicais e subtropicais. Principalmente, sobre a influência da microbiota ou microbioma nos criadouros. A influência de microrganismos (bactérias, fungos/leveduras e vírus) no processo reprodutivo ainda é escasso e, pouco entendido as relações e interações, principalmente a partir dos processos adaptativos.

Microrganismos (bactérias, fungos/levedura e outros até competidores podem colonizar e utilizar os ovos do mosquito como substratos locais em regiões de alta temperatura, umidade relativa, tipos de criadouro ou até a possível interação com a microbiota ou microbioma com atividade dos microrganismos que podem ser alteradas a partir das condições climáticas e ambientais disponíveis e, que podem influenciar a viabilidade, cooperatividade, eclosão dos ovos, sobrevivência das larvas até o inseto adulto (alado), além da dispersão e impactos ainda não plenamente conhecidos e/ou ainda até na contribuição temporal dos impactos da doença e população do inseto ve-

tor na saúde e comunidades (Kraemer *et al.*, 2019; Valle; Aguiar, 2023; Souza *et al.*, 2023).

Mas, acredita-se que as condições de adaptação ou influência na regularidade da forma geométrica dos ovos, e/ou distorção dessas formas, mesmo que o perímetro tenha o mesmo valor, permitem realizar o crescimento ou a diminuição da superfície com alguma vantagem adaptativa para o inseto. Pode-se sugerir que quanto mais regular for a forma geométrica, em questão, maior a área superficial e exposição às condições do microambiente de reprodução, em princípio.

Os estudos disponíveis na literatura mostraram a importância do *Ae. aegypti* como inseto vetor e da sua competência vetorial e adaptativa, devido a antropofilia e capacidade de adaptação aos habitats e ambientes não usuais. O estudo de Mundim-Pombo *et al.* (2021) destaca a importância do córion como barreira protetora e fator limitante para os embriões e/ou células embrionárias do mosquito. O córion é a membrana vascularizada que envolve o embrião e os demais anexos embrionários para proteção e nutrição. Os resultados mostraram que, apesar da contribuição, pode-se relatar a necessidade da continuidade dos estudos para identificação das razões dessa ocorrência. Há uma via bioquímica que pode ser mostrada por processos de oxidação/redução por peroxidase. Han, Li e Li (2000) sugerem que as características de uma peroxidase no córion dos ovos de *Ae. aegypti* refletem as funcionalidades bioquímicas na formação e endurecimento do córion nos ovos do inseto e, permitem toda esta funcionalidade do ovo na proteção e viabilidade do embrião do inseto (Han; Li; Li, 2000; Hilton, 1969; Rezende *et al.*, 2016; Mundim-Pombo *et al.*, 2021).

A forma elipsoide é uma forma geométrica que a superfície pode obter a partir da deformação de uma esfera por meio de escalas direcionais ou, mais geralmente, de uma transformação afim. Entre as superfícies quádricas, um elipsoide é sempre caracterizado por uma das duas propriedades: cada seção transversal plana é uma elipse, está vazia ou é reduzida a um único ponto (isso explica o nome, que significa "semelhante a uma elipse"); é sempre limitado, e que pode ser encerrado em uma esfera de dimensões suficientes.

Em termos moleculares pode-se entender a dinâmica da forma e comportamento atômico ou molecular. Esta forma geométrica permite a contenção de conteúdos de forma adequada às necessidades da espécie. A forma dos elipsoides pode ser usada, por exemplo, para determinar em que direção, ao longo dos três eixos do elipsoide, o átomo vibra ou está mais desordenado. Muitas vezes, é útil verificar se a geometria, forma e os tamanhos relativos dos elipsoides de diferentes tipos de átomos e seus comportamentos nestes espaços confinados que podem corresponder à magnitude relativa dos valores apresentados na tabela de fatores de temperaturas anisotrópicas. Se nenhum número contendo elipsoides térmicos pode ser percebido, é importante examinar os valores dos fatores de temperaturas anisotrópicas presentes na estrutura cristalina. Anisotropia significa negação de igualdade de direção, e esta é uma característica que uma substância possui que uma certa propriedade física varia com a direção considerada. Pode ser assim, é considerada um fenômeno de aplicação abrangente, no qual as propriedades físicas de um mesmo corpo geométrico dependem da direção em que são medidas e/ou consideradas, mas, sempre pode ser utilizada para classificação. Os resultados de Gunara; Joelianto; Ahmad (2023) demonstraram que o método digital por imagem pode ser utilizado para classificação de ovos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. O método proposto pode fornecer uma base para melhorar a identificação e vigilância dos insetos vetores e, até permitir a tomada de decisões no desenvolvimento de estratégias de controle populacional de insetos vetores a partir dos processos de adaptação e, podem ser percebidos e utilizados em estratégias de controle populacional ou detalhamento das influências dos processos adaptativos (Gunara; Joelianto; Ahmad, 2023).

A análise de resistência em termos materiais pode ser exemplificada a partir da composição, densidade de grupos funcionais (hidroxilas, preferencialmente) e estruturação. Pode-se exemplificar com a madeira (lignocelulose), que é exemplo de material anisotrópico e possui propriedades mecânicas que dependem da disposição e organização das suas fibras. Em testes mecânicos, a madeira expande-se ou se retrai de forma diferente em relação às variações de umidade no

ambiente devido a organização e sentido das fibras. Por exemplo, no sentido longitudinal ao eixo de uma tora, a variação é mínima (0,1%); no sentido tangencial, é máxima (até 10%), e no sentido radial, cerca de 6% (Cockcroft; Cosgrove; Wood, 1998).

Por outro lado, exemplos podem ser citados, que não apresentam anisotropia, por exemplo, a estrutura do titanato de cálcio (CaTiO_3) que não apresenta anisotropia e varia de acordo com a temperatura de forma homogênea (Gralik; Biava, 2019).

Os materiais nanofibrilares, como lignocelulose, celulose, quitina e seda, apresentam arquiteturas ordenadas por automontagem molecular em blocos de construção repetitivos, na forma de estruturas de ordem superior para propósitos, por exemplo, de proteção. Estas estruturas são estabilizadas por interações moleculares não covalentes e cooperativas. O princípio de construção hierárquico dos materiais biológicos apresenta notável resistência mecânica, anisotropia, flexibilidade e propriedades ópticas diferenciadas, incluindo a cor estrutural. Estas características tornam os biopolímeros nanofibrilares adequados para produção de materiais resistentes, sustentáveis e biocompatíveis para diferentes aplicações, incluindo as produzidas por diferentes (micro)organismos. As abordagens com design racional podem ser aplicadas para entendimento dos materiais biopoliméricos (Serrano *et al.*, 2015; Rezende *et al.*, 2016).

Ling; Kaplan; Buehler (2018) mostrou que as estratégias com design hierárquico de celulose, seda e quitina, permite nanoconfinamento, orientação fibrilar e alinhamento em estruturas 2D e 3D para produção de matérias inteligentes e multifuncionais, mecanicamente anisotrópicos e responsivos as demandas de funcionalidades e até de uso.

Jin, Feng e Xu (2013) estudaram as propriedades estruturais e mecânicas da interface quitina-proteína, que podem definir criticamente as propriedades dos materiais biológicos. Estes comportamentos podem ser entendidos a partir dos ovos dos insetos e das camadas/membranas com quitina-proteína. O conhecimento do comportamento da quitina e proteínas são partes importantes para entendimento das propriedades e dinâmica dos materiais nos ovos

dos insetos, principalmente, quando estão secos ou hidratados. Os comportamentos mecânicos da quitina, proteínas e das interfaces podem definir as propriedades mecânicas dos materiais biológicos. Os efeitos diferenciais dos polímeros e interfaces podem surgir nos microambientes, a partir do solvente de hidratação, por exemplo, com água, a partir das microestruturas e/ou íons inorgânicos como mostrado por Serrano *et al.* (2016), para as interações de nanocristais de quitina, proteína e água.

A dinâmica a nível molecular das interfaces quitina-proteína das hélices α e folhas β mostraram que a ligação de quitina à proteína é dependente da estrutura secundária das proteínas por ligações de hidrogênio (H). Os resultados dos estudos de Jin, Feng e Xu (2013) indicaram que os terminais das proteínas que permitem o ancoramento no substrato de quitina ocorre por ligações de H e contribuem também para a força interfacial do material. A presença de água na interface reduz a resistência ao enfraquecer a rede de ligações de H por competição aos sítios de interações originais. Os terminais de proteínas que interagem fortemente com a superfície da quitina por ligações de H sugerem uma estratégia de sobrevivência da espécie, da proteção ao colapso da interface, para a ocorrência da eclosão do embrião e desenvolvimento nos estádios larvais, pupa e inseto alado (adulto).

A hidratação é sempre um processo crítico na regulação da interface, onde as moléculas de água reduzem significativamente a resistência interfacial ao enfraquecer a rede de ligação de H. A ausência da água pode fortalecer a força interfacial por meio de ligação de H ou outras ligações quando há conteúdo crítico de água na interface confinada. A formação da rede de ligação de H, entretanto, pode melhorar as propriedades do material, além do que ligações de H cooperativas que podem desempenhar papel crítico quanto a força, capacidade de suporte de carga ou outros relacionados a sobrevivência do embrião. Todos estes fatos sugerem que as propriedades na interface quitina-proteína são alteráveis por modificação dos terminais das proteínas e/ou das cadeias laterais ou ainda a partir da funcionalização das superfícies de quitina. Deve-se considerar que a maioria dos materiais

biológicos encontram um ambiente complexo que incluem efeitos com solventes (água), íons, mudanças de pH, microbiota, condições ambientais, e até ligações cruzadas que diferenciam e podem alterar as propriedades desses materiais biológicos.

Vicent e Wegst (2004) demonstraram que nos insetos adultos alados, a cutícula do exoesqueleto é resistente e leve. Os autores analisaram as propriedades mecânicas da cutícula mostrando que o módulo de resiliência de Young é de cerca de 1 MPa, de cutículas moles de cerca de 1 kPa a 50 MPa, de cutículas esclerotizadas 1 - 20 GPa. A dureza Vicker da cutícula esclerotizada varia entre 25 e 80 kgf mm⁻², densidade é 1 - 1,3 kg m⁻³ com destaque para um de seus componentes, nanofibras de quitina, cujo módulo de Young é maior que 150 GPa. Os resultados do estudo sugerem que as propriedades estruturais se dão devido à estrutura em camadas, com endurecimento para o desempenho das asas e pernas dos insetos. Apesar do desconhecimento das propriedades mecânicas, pode-se perceber o notável desempenho e eficiência mecânica da cutícula quando comparados a outros materiais. Os resultados mostram e permitem a compreensão da relevância das microestruturas por orientação e forma, mas principalmente, incluindo a estrutura superficial de compósitos fibrosos para determinada funcionalidade em nanocompósitos, que tenham automontagem semelhante as cutículas de insetos, que podem ser arquétipo composicional como modelo para análise não apenas da funcionalidade, mas das características de materiais biológicos, por exemplo, ovos dos insetos.

Sviben *et al.* (2020) mostraram que a semelhança geométrica do arranjo de fibras helicoidais em matrizes fibrosas extracelulares biológicas, como osso, parede celular vegetal ou cutícula de artrópode, com as mesofases líquidas colestéricas levou à hipótese de que elas podem se formar passivamente por meio de um precursor da mesofase, em vez de diretamente controle celular. Os autores foram em busca de evidências diretas que sustentem a hipótese. O processo de formação da cutícula na tibia da *Locusta migratória*, mostra que há camadas de crescimento diário que surgem pela deposição de arranjos de fibras alternadas entre estruturas unidirecionais e helicoidais.

Usando feixe de íons focado / microscopia eletrônica de varredura (FIB/SEM) volume de imagem e espalhamento de raios-X de varredura, pode-se mostrar que as células epidérmicas determinam a orientação de fibra inicial, a partir da qual a arquitetura final emerge por montagem auto-organizada de quitina e proteínas. A orientação das fibras na cutícula é, portanto, determinada por processos ativos e passivos que ocorrem na montagem da cutícula.

Lizundia *et al.* (2021) mostraram que a interação entre luz e matéria pode ser utilizada para explorar e conhecer detalhes das estruturas hierárquicas de nanofibrilas de carboidratos (quitina e celulose) para definição das características geométricas. As nanofibrilas de quitina são responsáveis pela resistência mecânica em exoesqueletos de alguns animais e iridescência de alguns insetos por nanoestruturação organizada. O aparecimento de cores estruturais em conchas de insetos constituídas por quitina por intrincada organização das nanofibrilas de quitina nas estruturas como um modelo biomimético.

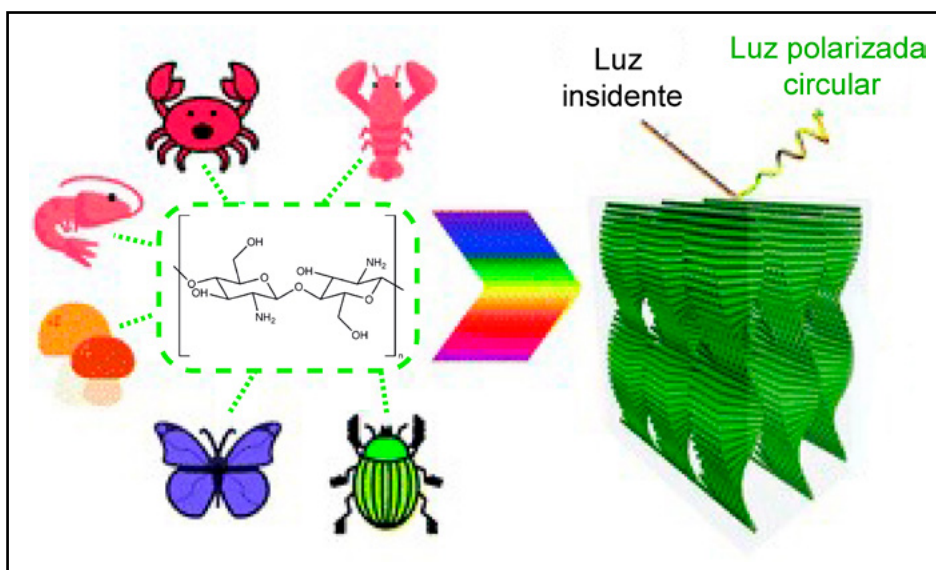
Os nanocristais de celulose (CNCs) são nanomateriais de alta razão de aspecto, preparados por hidrólise ácida do carboidrato mais abundante nas plantas, semelhante às nanofibrilas de quitina, os CNCs são dispersíveis em água e apresentam comportamento de automontagem como um molde liotrópico líquido-cristalino para estruturas organizadas de nanofibrilas de carboidratos com combinação de quiralidade, coloração e mesoporosidade por meio coloidal e por automontagem (**Figura 3**).

Os sistemas liotrópicos são soluções aquosas com auto-organização pelo efeito hidrofóbico; são misturas de moléculas de água com outras moléculas anfifílicas (com uma parte polar solúvel em água e uma parte apolar insolúvel em água) com vários tipos de aditivos. Os anfifílicos possuem interesse por suas propriedades de solubilização, principalmente, os lipídeos das membranas biológicas e/ou processos biológicos. Estes sistemas são estudados a partir de baixas concentrações até a formação de micelas e/ou vesículas na concentração micelar crítica (CMC), e acima da temperatura crítica Krafft de micelização. Estes sistemas em altas concentrações formam agregados de formas variáveis (cristais líquidos liotrópicos) que possuem transi-

ções de fase por mudanças da concentração dos componentes e, temperatura a partir das interações por energia elástica das interfaces polar-apolar e geometrias que resultam das interações competitivas (Lizundia *et al.*, 2021).

As estruturas, organização, composição/design e automontagem podem interferir na interação entre luz e matéria. Estas podem ser utilizadas para explorar e conhecer detalhes estruturais e propriedades, principalmente estruturas hierárquicas por exemplo, a partir de nanocavidades, estruturas alinhadas ou nanofibrilas de carboidratos (quitina e celulose) que permitem definir características e propriedades a partir da geometria dessas nanoestruturas.

Figura 3 - Coloração estrutural de artrópodes na natureza.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Lizundia *et al.*, 2021.

Richards e Dempksi (2011) descreveram um método para análise da dinâmica molecular de membrana proteicas por fluorescência e alteração de corrente por fluorometria. A abordagem descrita combina marcação fluoróforo sítio específico e utiliza uma pinça de voltagem por dois eletrodos para investigação da relação entre a estrutura e

função das proteínas de membrana. A técnica pode obter informações de resolução no tempo sobre a dinâmica conformacional de proteínas de membrana no transporte de íons e, permite ser adaptada para diferentes proteínas, canais e bombas de íons e transportadores moleculares. A dinâmica conformacional pode analisar um resíduo específico, transferência de energia de ressonância de fluorescência com vista a determinação das restrições de distância em holoenzima. A determinação das distâncias entre os resíduos e medição do movimento relativo entre as subunidades permite entender os mecanismos de passagem iônicas. A técnica é adaptável aos canais de íons, transportadores e bombas de íons e, utilizada para determinar as restrições de distância entre as subunidades de proteínas a partir da expressão funcional da proteína, por exemplo, na superfície dos oócitos de *Xenopus laevis*. A extensa área de superfície dos oócitos permite medições simples e funcional com um sinal de fluorescência. As análises das alterações de condições extracelulares como ligante, pH ou cátions/ânions podem fornecer informações adicionais para o mecanismo das proteínas da membrana e, pode incluir a manipulação seletiva de íons internos após a coexpressão com até uma segunda proteína.

Jackson (2009) demonstra que a forma elipsoidal encontrada em ovos de insetos, apesar de suas diferenças e deformações, pode ser comparada a diferentes estruturas naturais e aplicações. Por exemplo, na geodésia a forma elipsoide terrestre é uma figura matemática que se aproxima da forma da Terra e, como elipsoide de referência, é uma figura matemática que se aproxima da forma dos corpos planetários em geral. No aspecto mecânico o elipsoide de *Poinsot*, é um método geométrico para visualização do movimento sem torque de um corpo rígido em rotação; o elipsoide de tensão de Lamé é uma alternativa ao círculo de *Mohr* para a representação gráfica do estado de tensão em um ponto; o elipsoide de manipulação, é utilizado para descrever a liberdade de movimento de um robô, o elipsoide de Jacobi, é um elipsoide triaxial formado por um fluido em rotação. Na cristalografia, o elipsoide de índice, é um diagrama de um elipsoide que representa a orientação e a magnitude relativa dos índices de refração em cristal e o elipsoide térmico, são elipsoides usados em cristalografia para

indicar as magnitudes e direções da vibração térmica de átomos em estruturas cristalinas entre outras aplicações (iluminação, medicina ou análise de propriedades dinâmicas em fluidos e gravitacionais).

Na dinâmica de fluídos a forma elipsoide é a forma mais geral para cálculo de fluxo de fluido em torno de uma forma sólida. Os cálculos incluem a força necessária para transladar através de um fluido e girar dentro dele. As aplicações incluem a determinação do tamanho e da forma de moléculas grandes, a taxa de afundamento de pequenas partículas e a capacidade de locomoção de microrganismos, por exemplo, segundo Dusenbery (2009). A análise em termos de probabilidade e estatística mostraram que as distribuições elípticas, que generalizam a distribuição normal multivariada podem ser utilizadas em diferentes aplicações a partir das funções de densidade e, uma superfície de isodensidade é um elipsoide. O objeto/imagem isodensa significa que aquele objeto/imagem tem a mesma densidade do tecido do órgão em que se encontra.

Considerações finais

Os estudos e conhecimentos de fatores de influência da forma, constituição, condições e outras características ambientais como calor e umidade relativa podem influenciar na oviposição e processo reprodutivo do inseto, além de processos adaptativos que estão relacionados à sobrevivência da espécie. Estes fatores impactam não somente a sobrevivência, comportamentos e até a microbiota ou microbioma no processo de reprodução e, podem refletir na habilidade do inseto quanto as alterações/modificações, nos processos adaptativos e/ou estratégias de sobrevivência em aspectos e contribuições variáveis, a partir das condições impostas. Por exemplo, pode-se considerar a comunidade de microrganismos (microbiota) associadas a fatores e condições disponíveis nos criadouros para a reprodução que podem alterar comportamentos, composição e diversidade destas comunidades bacterianas e/ou as condições físico-químicas e bio-

lógicas que estejam associadas aos locais e processos de reprodução do inseto. A dinâmica e influências podem resultar em modificações profundas na composição, geometria, estratégias e comportamentos do inseto a partir do ovo/embrião até a eclosão das larvas e inseto adulto. As condições e/ou exposição da microbiota às condições climáticas e ambientais são aspectos dinâmicos e, podem resultar em impactos que afetam o desenvolvimento e sobrevivência, características e histórico do inseto. Estes fatos, fatores e detalhes precisam ser percebidos e considerados no controle populacional, mas principalmente, no desenvolvimento de estratégias e produtos para o controle populacional, por exemplo, a influência da temperatura, análise e/ou a eficiência da forma e geometria dos ovos (formas e ângulos de curvaturas elipsoides) e outros de estrutura e composição que resultam, por exemplo, no achatamento dos ovos por compressão de uma figura geométrica esférica para elipsoide de revolução (esferoide). Estas distorções de formas para ângulos de aproximadamente 120 graus, a partir de 90 graus, pode permitir a otimização das funcionalidades a partir das superfícies, áreas e volumes. As relações de área/volume são importantes para armazenamento e são parte de comportamentos estratégicos a partir das superfícies com áreas menores e maiores volumes. Os formatos do invólucro para e deposição/fixação nos criadouros, além de outros aspectos devem ser otimizados nas formulações inseticidas para a superação destes aspectos adaptativos, como o empilhamento, proteção e outros que são fatores desfavoráveis para o controle populacional. Estes fatores são variáveis e devem ser considerados a partir de estudos que considerem este dinamismo com a variação de fatores de maior ou menor influência como variáveis de contribuição para cada caso específico.

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

COCKCROFT, S; COSGROVE, J. B; WOOD, R. J. Comparative repellency of commercial formulations of deet, permethrin and citronellal against the mosquito *Aedes aegypti*, using a collagen membrane technique compared with human arm tests. **Medical and Veterinary Entomology**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 289-294, jul. 1998.

CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994.

DUSENBERY, D. B. **Living at micro scale**: the unexpected physics of being small. Harvard University Press, 2009.

FARNESI, L. C; VARGAS, H. C. M; VALLE, D; REZENDE, G. L. Darker eggs of mosquitoes resist more to dry conditions: melanin enhances serosal cuticle contribution in egg resistance to desiccation in *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* vectors. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 6063, 2017.

FORATTINI, O, P. **Culicidologia médica**: identificação, biologia, epidemiologia. São Paulo: EDUSP, v. 2, 2002.

GRALIK, G; BIAVA, G. Utilização de casca de ovo como fonte alternativa de cálcio na obtenção de titanato de cálcio (CaTiO₃). **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 12495, 2019.

GUNARA, N. P; JOELIANTO, E; AHMAD, I. Identification of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* eggs based on image processing and elliptic fourier analysis. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 13, p. 17395, 2023.

HAN, Q; LI, G; LI, J. Purification and characterization of chorion peroxidase from *Aedes aegypti* eggs. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 378, p. 107-115, 2000.

HINTON, H. Respiratory systems of insect egg shells. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 14, p. 343-368, 1969.

JACKSON, G. Review of living at micro scale: the unexpected physics of being small, by D.B. Dusenbery. **Oceanography**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 271-272, 2009.

JIN, K; FENG, X; XU, Z. Mechanical properties of chitin–protein interfaces: a molecular dynamics study. **BioNanoScience**, [S. l.], v. 3, p. 312-320, 2013.

KRAEMER, M. U. G; REINER, R. C.J. R, BRADY, O. J; MESSINA, J. P, GILBERT, M; PIGOTT, D. M; YI, D; JOHNSON, K; EARL, L; MARCZAK, L. B; SHIRUDE, S; DAVIS WEAVER, N; BISANZIO, D; PERKINS, T. A; LAI, S; LU, X; JONES, P; COELHO, G. E; CARVALHO, R. G, VAN BORTEL, W; MARSBOOM, C; HENDRICKX, G; SCHAFFNER, F; MOORE, C. G, NAX, H. H; BENGTSSON, L; WETTER, E; TATEM, A. J; BROWNSTEIN, J. S, SMITH, D. L; LAMBRECHTS, L; CAUCHEMEZ, S; LINARD, C; FARIA, N. R; PYBUS, O. G; SCOTT, T. W; LIU, Q; YU, H; WINT, G. R. W; HAY, S. I; GOLDING, N. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature Microbiology**, [S. l.], v. 4, p. 854-863, 2019.

LING, S; KAPLAN, D. L; BUEHLER, M. J. Nanofibrils in nature and materials engineering. **Nature Reviews Materials**, [S. l.], v. 3, p. 18016, 2018.

LIZUNDIA, E; NGUYEN, T. D; WINNICK, R. J, MACLACHLAN, M. J. Biomimetic photonic materials derived from chitin and chitosan. **Journal of Materials Chemistry C**, [S. l.], v. 3, n. 9, p. 796-817, 2021.

MOSQUERA, K. D; VILLEGAS, L. E. M; FERNANDES, G. R; DAVID, M. R, MACIEL-DE-FREITAS, R; MOREIRA, L. A; LORENZO, M. G. Egg laying by female *Aedes aegypti* shapes the bacterial communities of breeding sites. **BMC Biology**, [S. l.], v. 21, n. 97, p. 1-15, 2023.

MUNDIM-POMBO, A. P. M; CARVALHO, H. J. C; RIBEIRO, R. R; LEÓN, M; MARIA, D. A, MIGLINO MA. *Aedes aegypti*: egg morphology and embryonic development. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 14, p. 531, 2021.

PRASAD, A; SREEDHARAN, S; BAKTHAVACHALU, B; LAXMAN, S. Eggs of the mosquito *Aedes aegypti* survive desiccation by rewiring their polyamine and lipid metabolism. **PLoS Biology**, [S. l.], v. 21, n. 10, p. 3002342, 2023.

REZENDE, G. L.; VARGAS, H. C. M.; MOUSSIAN, B.; COHEN, E. Composite eggshell matrices: chorionic layers and sub-chorionic cuticular envelopes. In: Extracellular Composite Matrices. **Arthropods**, [S. l.], p. 325-366, 2016.

RICHARDS, R.; DEMPSKI, R. E. Examining the conformational dynamics of membrane proteins in situ with site-directed fluorescence labeling. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], v. 29, n. 51, p. 2627, 2011.

SVIBEN, S.; SPAEKER, O.; BENNET, M.; ALBÉRIC, M.; DIRKS, B.; MOUSSIAN, B.; FRATZL, P.; BERTINETTI, L.; POLITI, Y. Epidermal cell surface structure and chitin-protein co-assembly determine fiber architecture in the locust cuticle. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [S. l.], v. 12, n. 23, p. 25581-25590, 2020.

SERRANO, C. V.; LEEMREIZE, H.; BAR-ON, B.; BARTH, F. G.; FRATZL, P.; ZOLOTYABKO, E.; POLITI, Y. Ordering of protein and water molecules at their interfaces with chitin nano-crystals. **Journal of Structural Biology**, [S. l.], v. 193, n. 2, p. 124-131, 2016.

SOUZA, R. L.; NAZARE, R. J.; ARGIBAY, H. D.; PELLIZZARO, M.; ANJOS, R. O.; PORTILHO, M. M.; JACOB-NASCIMENTO, L. C.; REIS, M. G.; KITRON, U. D.; RIBEIRO, G. S. Density of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in a low-income Brazilian urban community where dengue, Zika, and chikungunya viruses co-circulate. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 16, p. 159, 2023.

VALLE, D.; AGUIAR, R. Is the mosquito the problem? *Aedes aegypti* and urban arboviruses – contradictions and reflections. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 2023538, 2023.

VIEIRA, G.; INSTITUTO OSWALDO CRUZ; FIOCRUZ. **Conheça o comportamento do mosquito *Aedes aegypti* e entenda a razão que leva este pequeno inseto a ser taxado desta forma**. Rio de Janeiro, IOC/Fiocruz, 2025. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/oportunista.html>. Acesso em: 15 maio 2026.

VINCENT, J. F. V.; WEGST, U. G. K. Design and mechanical properties of insect cuticle. **Arthropod Structure & Development**, [S. l.], v. 33, p. 187-199, 2004.





[Voltar ao Sumário](#)

CAPÍTULO 4

RESISTÊNCIA DO *Aedes* *Aegypti* A INSETICIDAS

Ramão Luciano Nogueira Hayd
Jaime Louzada

A espécie *Aedes aegypti* é nativa da África, mas, devido ao seu comportamento sinantrópico se espalhou para outros continentes após a intensificação da migração humana e do comércio entre países. Suspeita-se que esta espécie chegou ao Brasil durante o tráfico de escravos, mas os primeiros registros formais tenham sido feitos no final do século XIX por Lutz e Ribas. Nesta época, a transmissão do vírus da febre amarela já havia sido atribuída ao *Ae. aegypti*. Nos anos seguintes, também foi evidenciado que esta espécie era capaz de transmitir o vírus da dengue, o que demandou ações para conter os surtos e epidemias que surgiam pelo país. Sem tratamentos eficazes para as doenças, a linha de frente se concentrava em eliminar o vetor. Isso consistia em métodos físicos como eliminar os criadouros ou aplicar de óleo na superfície da água para impedir a respiração das larvas e emergência de adultos. Outra estratégia envolvia o uso de verde de Paris, considerado o primeiro inseticida usado no controle de insetos. Este composto inaugurou os primeiros passos do controle químico de *Ae. aegypti*, mas foi o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) que se tornou notório em meados do século XX. Por volta de 1950, como resultado de medidas para controle da febre amarela, o *Aedes aegypti* chegou a ser erradicado do território brasileiro, e reentrada do vírus DENV-1 e DENV-4 no ano de 1982 em Boa Vista, Roraima (Osanai, 1984).

Fatores de resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*

Apesar do desenvolvimento de novos métodos de controle de *Ae. aegypti*, como a soltura de mosquitos transgênicos ou infectados por linhagens da bactéria endossimbionte *Wolbachia* (Achee *et al.*, 2019), o uso de inseticidas permanece no escopo de estratégias utilizadas pelos órgãos brasileiros de saúde pública e de diversos outros países. Os compostos neurotóxicos são os mais utilizados seguidos pelos inibidores de crescimento (O'Neill *et al.*, 2019) como mostrado na **Quadro 1**.

Quadro 1 - Classe de inseticidas usados para o controle de *Aedes aegypti* e modo de ação.

Classe	Inseticidas	Alvo
Organoclorados	DDT	Canal de sódio regulado por voltagem
Carbamatos		Acetilcolinesterase
Organofosforados	Malation, Temefos	
Piretroides	Permetrina, Cipermetrina	

Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de O'Neill *et al.*, 2019.

Legenda: DDT: dicloro-difenil-tricloroetano.

Os inseticidas das classes dos organofosforados e carbamatos agem inibindo as enzimas acetilcolinesterases (AChEs) localizadas na fenda sináptica que se forma entre os neurônios. Esta enzima é responsável por encerrar a transmissão do impulso nervoso de um neurônio ao outro através da degradação do neurotransmissor acetilcolina (ACh). Quanto inibida, há um acúmulo de ACh, gerando hiperestimulação do Sistema Nervoso Central (SNC) levando o inseto a morte. Atualmente, os organofosforados temefós e malation estão disponíveis para o controle de *Ae. aegypti* no Brasil (Valle *et al.*, 2019), pois apesar de eficaz, estes se decompõem rapidamente no ambiente, representando um risco menor para os humanos e outros animais que não são alvos do programa de controle (Martins *et al.*, 2009; Hayd *et al.*, 2020).

Já o modo de ação dos inseticidas carbamatos é similar aos organofosforados, porém têm como principal diferença a característica de inibir reversivelmente a AChE (Fukuto, 1990). Esses inseticidas foram utilizados para o controle de vetores no Brasil na década de 1980, principalmente no controle do *Aedes* (Corbel *et al.*, 2017).

Os organoclorados inibem a ação do receptor ácido gama-aminobutírico (GABA), aumentando a permeabilidade do íon cloro nos neurônios, e essa inibição antagoniza o efeito relaxante do receptor GABA, promovendo frequentes estímulos nervosos seguido de paralisia e morte (Moyes *et al.*, 2017). Os organoclorados DDT agem nos canais de sódio regulados por voltagem (NaVs), mantendo-os abertos

por mais tempo, ocorrendo transmissão contínua do impulso nervoso levando o inseto a morte por hiperexcitação (Martins *et al.*, 2009), ainda possuem alta persistência no ambiente, baixa solubilidade em água e alta solubilidade em lipídios (Braga; Valle, 2007a; Morrissey *et al.*, 2015).

Os inseticidas reguladores de crescimento de insetos (IGRs) devido a seu modo de ação podem ser divididos em duas categorias: Inibidores de Síntese de Quitina e Análogos de Hormônio Juvenil (AHJ). Os Inibidores da Síntese de Quitina (ISQs) atuam na biossíntese da quitina, atuando na fase larval do inseto. Para uso no controle de *Ae. aegypti* no Brasil foram recomendados para uso em campanhas o diflubenzuron (2008) e posteriormente o novaluron (Martins *et al.*, 2009). Da mesma forma, os AHJ atuam no desenvolvimento do inseto inibindo a emergência do adulto. No Brasil o inseticida recomendado é o pyriproxyfen, em substituição ao novaluron a partir de 2014 (Valle *et al.*, 2019). O pyriproxyfen afeta a morfogênese, reprodução e embriogênese dos insetos (estágio de transformação larva-pupa), causando deformação no inseto e maiores índices de mortalidade na fase de pupa (Morrissey *et al.*, 2015; Valle *et al.*, 2019).

Os inseticidas piretróides atuam no SNC e periférico (SNP) do inseto nos NaVs presentes nos axônios. Os inseticidas desta classe mantêm os NaVs abertos, impedindo assim a interrupção do impulso nervoso, gerando hiperexcitação seguida de paralisia e morte (Valle *et al.*, 2019).

Há dois tipos de piretróides: tipo I e tipo II. Os piretróides tipo I agem principalmente no SNP. Já os piretróides tipo II (exemplo a deltametrina) agem principalmente no SNC e são considerados mais potentes por inibirem o funcionamento dos NaVs por mais tempo (Hemingway *et al.*, 2004).

Novos inseticidas da classe dos neonicotinoides foram recentemente aprovados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2020). Esses inseticidas mimetizam o neurotransmissor ACh e competem com ele pelos seus receptores nicotinérgicos (localizados na membrana pós-sináptica). A ativação dos receptores de ACh é prolongada, causando hiperexcitabilidade no sistema nervoso central de-

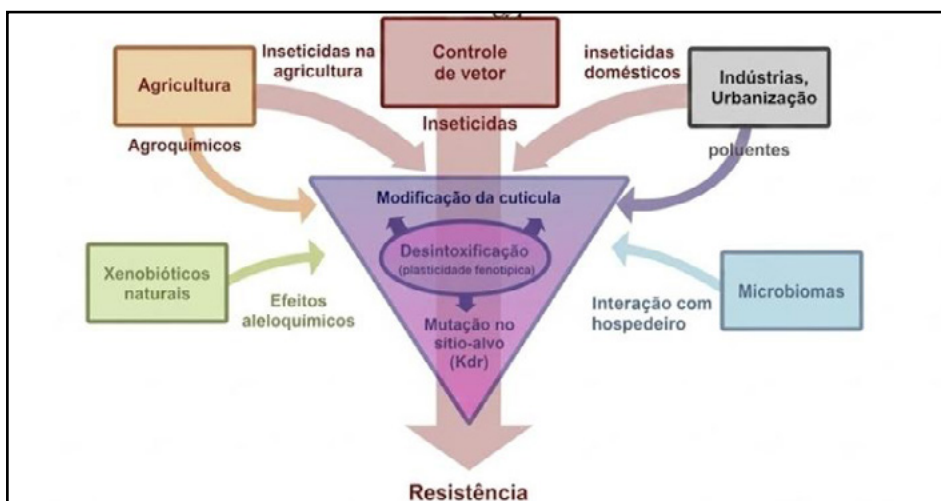
vido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, levando o inseto a morte. Embora os neonicotinoides tenham ação mais lenta quando comparados aos piretróides e organofosforados, populações resistentes a esses inseticidas não parecem apresentar resistência cruzada a inseticidas desta classe (Valle *et al.*, 2019). Contudo, cabe ressaltar que os neonicotinoides oferecem um risco à contaminação ambiental por ser um composto com alta solubilidade em água e longa persistência no solo (Morrissey *et al.*, 2015).

Compreender a base molecular dos mecanismos de resistência a inseticidas em *Ae. aegypti* ajuda a melhorar as estratégias de controle vetorial que podem ser aplicadas a diversas localidades em condições geográficas e urbanas semelhantes.

A resistência aos inseticidas pode ser definida como uma habilidade de uma determinada população de insetos de sobreviver a doses de um composto tóxico específico, letais à maioria dos indivíduos de uma linhagem suscetível da mesma espécie (Beaty; Marquardt, 1996). Essa resistência tem como foco a variabilidade genética de populações naturais desses insetos, que sob pressão do inseticida, podem ter fenótipos específicos selecionados, possivelmente aumentando em frequência. A resistência de uma população a determinado composto pode ser avaliada através de ensaios de laboratório e de campo (Martins *et al.*, 2009).

Muitos aspectos contribuem para a seleção de resistência aos inseticidas em *Ae. aegypti*, entre os quais se destacam falhas operacionais na aplicação dos compostos, bem como o uso exacerbado deles. Uso de agrotóxicos e rejeitos industriais podem também contribuir para resistência cruzada aos produtos utilizados contra insetos vetores. Nos chama atenção também o uso indiscriminado pela população do inseticida aerossol doméstico (spray), encontrado com facilidade e usado sem nenhum controle ou monitoramento (**Figura 1**) (Nkya *et al.*, 2013).

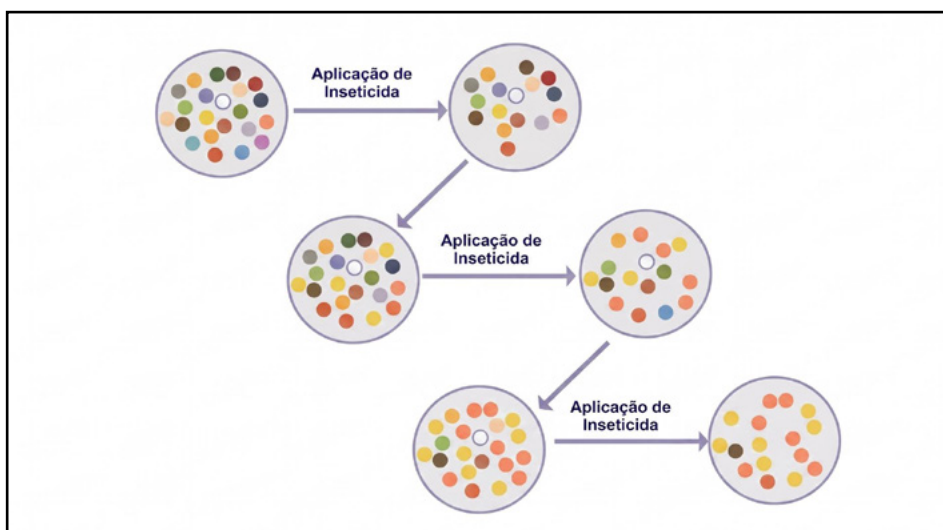
Figura 1 - Esquema demonstrando fatores que contribuem para a resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Nkya et al., 2013 apud Hayd et al., 2020.

O uso intermitente do inseticida tem favorecido populações resistentes de *Ae. aegypti* e dificultado o controle desses vetores. O processo de seleção natural pelo uso constante de uma única classe de inseticida favorece indivíduos resistentes (**Figura 2**) (Braga; Valle, 2007; Brito et al., 2018; Valle et al., 2019; Hayd et al., 2020).

Figura 2 - Representação do processo de seleção de indivíduos resistentes por aplicação de inseticidas.

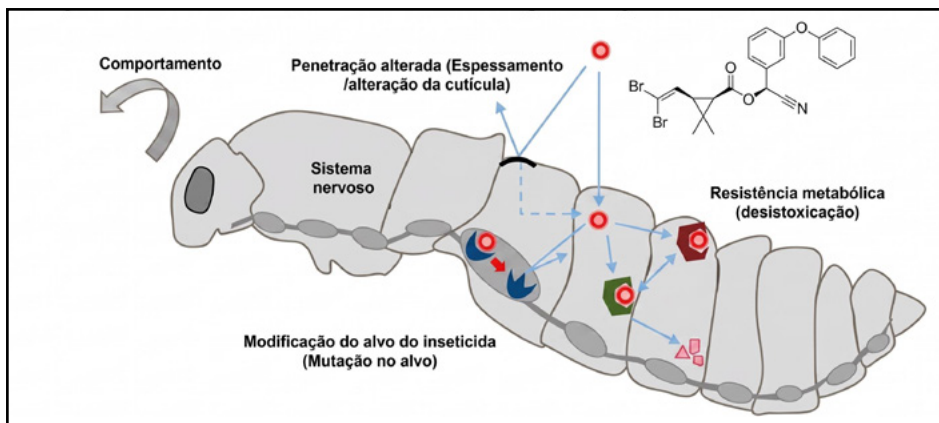


Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Valle et al., 2015 apud Hayd et al., 2020.

Mecanismos de resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*

Podemos organizar os mecanismos de resistência a inseticidas em quatro categorias como mostrado na **Figura 3**: (1) alteração comportamental, quando o inseto percebe a presença do inseticida e evita se aproximar, (2) redução de penetração do inseticida ocasionado pelo espessamento da cutícula, (3) melhora do metabolismo resultante de mutações não sinônimas e/ou aumento da transcrição de genes que codificam enzimas detoxificantes e (4) mutações não sinônimas no sítio-alvo dos inseticidas. Apesar de listados separadamente, estes mecanismos podem ocorrer concomitantemente, sendo os dois últimos mais investigados em insetos vetores (Hemingway et al., 2004; Nkya et al., 2013).

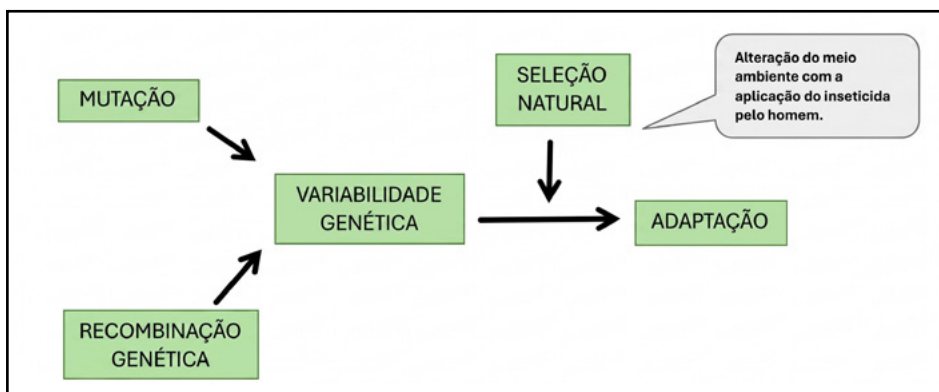
Figura 3 - Mecanismos de resistência a inseticidas em quatro categorias.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Corbel, 2017.

A resistência aos inseticidas pode ser funcionalmente definida como a habilidade de uma população de insetos de sobreviver a doses de um determinado composto tóxico, letais à maioria dos indivíduos de uma linhagem suscetível da mesma espécie (Beaty; Marquardt, 1996). A **Figura 4** demonstra o processo de seleção natural neste caso induzido por ação antrópica com o uso de inseticidas no controle de vetores.

Figura 4 - Fatores de resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024.

Espessamento de cutícula

O espessamento da cutícula, possivelmente confere o fenótipo resistente a um determinado composto químico, ou seja, revigora a hipótese deste mecanismo estar associado à resistência a um mesmo inseticida (resistência múltipla) ou seja, uma combinação do espessamento da cutícula e outro mecanismo como a resistência metabólica (Becker *et al.*, 2010). Esse espessamento pode levar a menores taxas de penetração do inseticida, contribuindo no processo de metabolização, pela ação das enzimas detoxificantes uma vez que uma menor quantidade do princípio ativo penetra no organismo (Wood *et al.*, 2010).

Inseticidas da classe piretróide e organofosforado atuam por contato e penetram na cutícula, disseminando através do tegumento e transportados pela hemolinfa para os órgãos-alvo, onde são acumulados, metabolizados ou excretados (Ranson *et al.*, 2011).

Interessante que este mecanismo pode não conferir altos níveis de mortalidade nas populações de insetos, possivelmente ao interagir sinergicamente com outros mecanismos pode causar altos níveis de resistência (Raymond; Heckel; Scott, 1989).

Resistência metabólica

Este mecanismo pode ser deflagrado por diversos genes, o que o torna um dos mais complexos de ser diagnosticado. Destaca-se a participação de genes das famílias das carboxilesterases (CCE), citocromo oxidase P450, glutathione S-transferase (GST) e transportadores ABC (ABC). A resistência metabólica é o processo no qual a desintoxicação ao inseticida ocorre em maior eficácia devido a alterações na ação de enzimas detoxificantes do inseto. O aumento na atividade enzimática é responsável por metabolizar, depositar e excretar os inseticidas (Braga; Valle, 2007).

Este processo pode ser dividido em duas etapas: Fase I (oxidação), na qual as CCE e oxidases de função mista (MFO's) conhecidas

como monoxigenases ou enzima citocromo P450, promovem a hidrólise e oxidação do inseticida, formando um substrato para próxima fase; Fase II (conjugação), a GST conjugua composto que torna mais solúvel (hidrossolúvel) o inseticida para posterior excreção (Panini *et al.*, 2016).

Maior quantidade ou atividade destas enzimas permite que o inseto metabolize o inseticida rapidamente biotransformando-o em um composto menos tóxico ou em uma forma (hidrossolúvel) adequada para rápida excreção (Panini *et al.*, 2016). Essas enzimas atuam diretamente diminuindo a quantidade e o tempo de permanência do xenobiótico no inseto através do processo de biotransformação (Hemingway *et al.*, 2004).

Estudos demonstram a elevação na atividade enzimática em mosquitos resistentes a organofosforados e piretróides (processo de resistência pode ser detectado por meio de bioensaios com o sinergista butóxido de piperonil) (Braga; Valle, 2007a; Hemingway *et al.*, 2004).

As GSTs também estão envolvidas na detoxificação de organofosforados e piretróides. Podem ser subdivididas em três grupos: GSTs citosólicas, microssomais e mitocondriais (Ranson; Hemingway; Black, 2007), mas em mosquitos, apenas as GSTs citosólicas e microssomais são encontradas (Belinato; Martins, 2016).

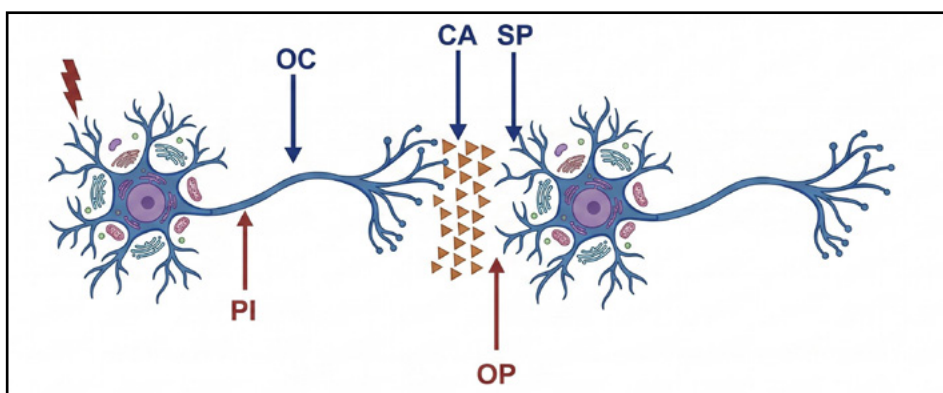
Enzimas esterases pertencentes à superfamília das CCEs, desempenham uma importante função no metabolismo de compostos endógenos e exógenos e algumas dessas proteínas esterásicas são específicas para determinados substratos (hormônio juvenil e a AChE), enquanto que outras metabolizam substratos inespecíficos (esterases de função mista) (Montella; Schama; Valle, 2012), e já foi descrita em mosquitos resposta à pressão de seleção imposta pelos inseticidas da classe organofosforados e carbamatos (Hemingway *et al.*, 2004).

Foram identificadas populações de *Ae. aegypti*, de diversas localidades do Brasil, resistentes a piretróides e ao larvicida organofosforado temephos, constatados através de ensaios bioquímicos onde foi verificada a atividade de enzimas P450, esterases e GST (Montella; Schama; Valle, 2012; Belinato; Martins, 2016).

Resistência sítio alvo no *Aedes aegypti*

Em relação aos inseticidas neurotóxicos, destacamos as classes permitidas para uso em saúde pública: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e espinosinas, com potencial ativo de ação no SNC do inseto (Braga; Valle, 2007 *apud* Hayd, 2020). Ilustramos a representação esquemática de dois neurônios em mosquitos *Ae. aegypti* e evidenciamos a atuação na transmissão axônica pelo organoclorado e o piretroide e a classe de inseticidas que atuam na transmissão sináptica como os carbamatos e os organofosforados (**Figura 5**). Além destes, inseticidas da classe dos neonicotinoides foram recentemente indicados para o controle de mosquitos (WHO, 2020).

Figura 5 - Representação esquemática de dois neurônios com indicação das classes de inseticidas neurotóxicos que atuam na transmissão axônica (OC, PI) e na transmissão sináptica (CA, OP) em *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024. Adaptado de Valle *et al.*, 2015 *apud* Hayd *et al.*, 2020.

Os Receptores GABA

O canal de cloreto ativado pelo GABA, codificado pelo gene RDL (resistente à dieldrin), é o alvo importante para inseticidas de estruturas amplamente variadas, onde foi identificado a substituição de amino, alanina por serina no códon 302 (A302S), conferindo resistência (gene Rdl) (Hemingway *et al.*, 2004). O gene Rdl foi identificado em *Ae. aegypti* em 1993 (Thompson; Shotkoski; French-Constant, 1993).

Em insetos, além do SNC, os receptores GABA também são encontrados no sistema neuromuscular, sendo responsáveis pelo controle de íons Cl⁻ no interior da célula. Após a ligação do GABA ao seu receptor pós-sináptico ocorre um aumento da permeabilidade da membrana aos íons cloro e o efeito inibitório do sistema nervoso. Os receptores GABA que agem como canais iônicos são chamados de receptores ionotrópicos e são alvos dos inseticidas piretroides tipo II e organoclorados ciclodienos provocando inibição do impulso nervoso, desencadeando incoordenação dos movimentos e paralisia do inseto (Valle *et al.*, 2019).

Mecanismo da Enzima Acetilcolinesterase (AChE)

Este tipo de mecanismo ocorre quando a molécula alvo do inseticida sofreu alguma alteração, de forma que ela perde sua característica principal. Os exemplos mais conhecidos são mutações no gene do NaV e na AChE. A maioria dos insetos apresenta dois genes que codificam a AChE, denominados ace-1 e ace-2. A AChE, é alvo dos inseticidas organofosforados e carbamatos, atuando na fenda sináptica, onde hidroliza moléculas do neurotransmissor ACh em colina e ácido acético para a interrupção da transmissão do impulso nervoso. Inseticidas que inibem a AChE acarretam um acúmulo do neurotransmissor na fenda sináptica causando impulso nervoso contínuo, levando o inseto

a paralisia e morte. Desta forma, mutações no gene da AChE (ace-1) podem levar a mudanças estruturais na enzima e, consequentemente, à resistência a carbamatos e organofosforados (Fukuto, 1990). Em mosquitos, essa mutação que confere resistência a inseticidas se encontra no gene ace-1, na posição 119 (substituição de glicina por serina - G119S). Essa mutação clássica foi encontrada nos gêneros *Culex* e *Anopheles*, no entanto, não ocorre em *Aedes* spp., pois seriam necessárias duas mutações simultâneas no mesmo códon (Weill *et al.*, 2004).

Estudo revela que há redução na sensibilidade a inseticidas devido ao maior número de moléculas de AChE nas membranas celulares de *Bactrocera oleae*, inseto que apresenta apenas o gene ace-2. Nesta situação apontaram deleção de três glutaminas na região C-terminal da cadeia peptídica da AChE. Possivelmente esta deleção possibilitou ancoramento da AChE nas membranas celulares (Kakani *et al.*, 2011). Em populações brasileiras de *Ae. aegypti* não se constatou qualquer alteração na sensibilidade da AChE. Quando na presença do inibidor CA propoxur, apenas houve maior atividade da AChE (Viana-Medeiros, 2011).

O Canal de Sódio Regulado por Voltagem (NaV)

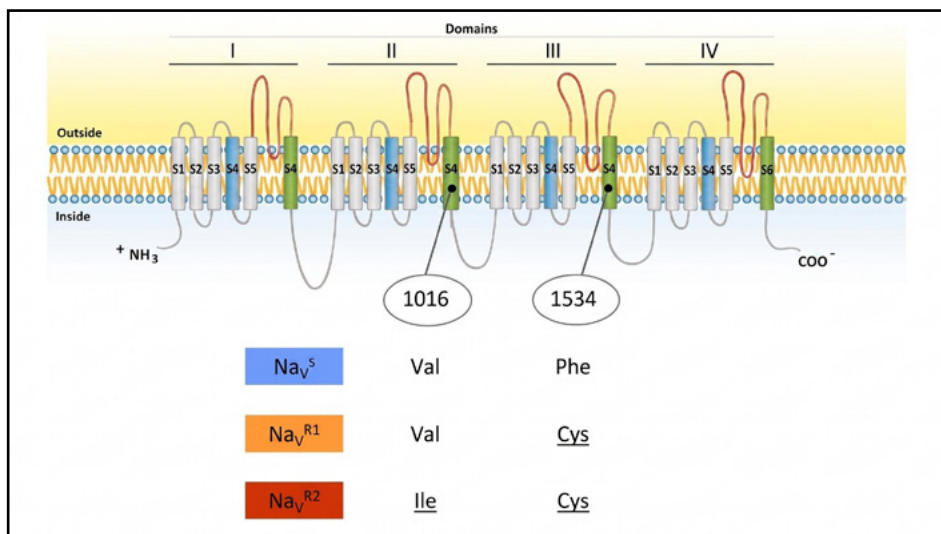
O NaV é uma proteína transmembrana composta por quatro domínios (I-IV) homólogos, cada um com seis segmentos (S1-S6) e com um loop adicional entre os segmentos S5 e S6 (P-loop). Em *Ae. aegypti* são conhecidas pelo menos 11 mutações no NaV, no entanto está bem demonstrado que substituições nos segmentos IIS6 e IIIS6 parecem ser de fato knockdown (kdr) (Moyes *et al.*, 2017). A mutação F1534C no segmento IIIS6 é encontrada em populações *Ae. aegypti* resistentes a piretroides em diversos continentes. Pode ainda ser encontrada acompanhada da mutação V1016I ou V1016G no segmento IIS6, respectivamente nas Américas ou no sudeste asiático (Cosme *et al.*, 2020).

Os piretroides e o DDT se ligam no NaV, mantendo o canal por mais tempo aberto, o que faz com o que o impulso nervoso seja disparado continuamente. O inseto sofre contrações musculares repetitivas, chegando à paralisia e morte, efeito conhecido como knockdown. Mutações no NaV podem levar resistência a este efeito e são, portanto, conhecidas como mutações kdr (Martins *et al.*, 2009; Vera-Maloof *et al.*, 2015; Belinato; Martins, 2016).

Em populações de *Ae. aegypti* do Brasil há, pelo menos duas mutações kdr importantes: V1016I e F1534C, de forma que esta última pode ocorrer sozinha (alelo NaVR1: V1016+1534C) ou em conjunto com a primeira (alelo NaVR2: 1016I+1534C) (**Figura 6**). Sabe-se ainda que o alelo NaVR2 fornece maiores níveis de resistência, quando em homozigose (Linss *et al.*, 2014; Belinato; Martins, 2016; Brito *et al.*, 2018). Hayd *et al.* (2020) apontam que após análise temporal em populações de *Ae. aegypti* do Brasil estão presentes o kdr 1534Cys, onde o haplótipo V1016 + 1534Cys surgiu primeiro e mais recentemente, o duplo mutante 1016Ile + 1534Cys tem se expandido.

Uma terceira substituição, V410L no segmento IS6, também ocorre em populações brasileiras, geralmente no alelo NaVR2 (Cosme *et al.*, 2020).

Figura 6 - Representação esquemática do canal de sódio regulado por voltagem (NaV), seus domínios (I-IV) e segmentos (S1-S6). Em destaque, os sítios de mutação e constituição dos alelos *kdr* encontrados em *Ae. aegypti* do Brasil.



Fonte: Linss et al., 2014 apud Hayd et al., 2020.

Linss e colaboradores (2014) afirmam que o conhecimento da diversidade do canal de sódio em populações naturais, junto com o papel de cada alelo quanto à resistência a piretroide, bem como seu custo fitness são cruciais para preservar a eficácia desta classe de compostos como uma ferramenta viável contra *Ae. aegypti*.

Hayd et al. (2020) constataram a ausência do haplótipo S do tipo selvagem (1016 Val+ + 1534 Phe+) em nossas populações de *Ae. aegypti* de Roraima, o que sugere que alelos *kdr*, que estão entre os principais mecanismos de resistência à piretroides, estão parcialmente fixados nas populações daquele Estado, parcialmente justificando os níveis de resistência a estes compostos.

A frequência de resistência a inseticidas em uma determinada população é um processo adaptativo impulsionado pela seleção natural antrópica, variando no espaço e no tempo, sob o controle de fatores biológicos, genéticos e ambientais (Dusfour et al., 2019). Entretanto a resistência em uma população geralmente surge da variação genética

permanente existente (ou seja, seleção de alelos resistentes raros) ou da chegada de indivíduos com alelos de resistência através da migração (ou ação antrópica) (Muthusamy; Shivakumar, 2015).

O modelo de Hardy-Weinberg ignora a maioria das complexidades das populações e essas frequências alélicas na maior parte das populações naturais são afetadas por mutações e seleção natural, o que acaba provocando alterações na frequência alélica com o passar do tempo. Podemos afirmar que esses processos contribuem para a evolução, que pode ser definida como uma mudança cumulativa na composição genética de determinada população. O termo mutação que utilizamos neste contexto significa todas as mudanças genéticas incluindo substituição de nucleotídeos, inserções e deleções, mudança de localização genômica de elementos de transposição de rearranjos cromossômicos. Os princípios de Hardy-Weinberg fornecem as bases teóricas na genética de populações, ou seja, as frequências alélicas na próxima geração são exatamente as mesmas da geração anterior, e significa que essas frequências alélicas permanecem iguais geração após geração, ocorrendo o mesmo com as frequências genotípicas que chamamos de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Hartl, 2008).

O **Quadro 2**, além de descrever a classe de inseticida também enfatiza o mecanismo de ação destes.

Quadro 2 - Resumo explicativo da classe, composição e mecanismo de ação dos inseticidas.

Classe do inseticida	Composição	Mecanismo de ação
Organoclorado	Contém carbono, hidrogênio e cloro. São divididos em difenil afláticos, HCH, ciclodienos, e policloroterpenos. Destaca-se o DDT (Ware; Whitacre, 2004 <i>apud</i> Lopes, 2020).	Inibem a ação do receptor GABA, que em condições normais, aumentam a permeabilidade do íon cloro nos neurônios, com exceção do DDT que age no NaV, mantendo-os abertos por maior tempo

Continua.

Quadro 2 - Resumo explicativo da classe, composição e mecanismo de ação dos inseticidas.

Continuação.

Classe do inseticida	Composição	Mecanismo de ação
Organofosforados	Derivados de ácido fosfórico e considerados os compostos mais nocivos para o ser humano. Amplamente utilizados em Saúde Pública por serem biodegradáveis e não se acumularem nos tecidos. A principal desvantagem é a instabilidade química, o que torna obrigatória a renovação periódica de sua aplicação (Braga; Valle, 2007)	Atuam inibindo a AChE, importante enzima do SNC. Essa enzima fosforilada pelo inseticida, fica irreversivelmente inativada
Carbamatos	São ésteres de ácido carbâmico. Desenvolvidos na década de 1950 com ação anticolinesterásica no sistema nervoso semelhante aos organofosfatos. Carbaryl foi o primeiro carbamato e o mais conhecido e aplicado (Braga; Valle, 2007)	Como os organofosforados, inibem a AChE. Têm como principal diferença de inibir reversivelmente a AChE
Insect Growth Regulator – IGR (reguladores de crescimento de insetos)	Não matam diretamente o inseto, mas interferem no desenvolvimento embrionário larval ou ninfal, agindo na metamorfose e na reprodução (Gatton <i>et al.</i> , 2013).	Inibidores de Síntese de Quitina e AHJ

Continua.

Quadro 2 - Resumo explicativo da classe, composição e mecanismo de ação dos inseticidas.

Continuação.

Classe do inseticida	Composição	Mecanismo de ação
Piretroides	A base de piretro (composto natural extraído de flores de crisântemos). Apresentam baixa toxicidade para mamíferos. Durante a década de 60 começaram a desenvolver piretroides sintéticos mais eficientes (Braga; Valle, 2007; Valle <i>et al.</i> , 2019)	Atuam no NaV presente nos axônios, mantendo aberto este canal e mantendo a continuidade sem interrupção do impulso nervoso. Esse fenômeno gera hiperexcitação seguida de paralisia e morte (Narahashi <i>et al.</i> , 1998)
Neonicotinoides	Descobertos em 1985 e tem como base a molécula de nicotina. Usados no controle de insetos sugadores e mastigadores (Morrissey <i>et al.</i> , 2015)	O modo básico de ação é atingir o nAChR no SNC do inseto gerando estímulos contínuos (Morrissey <i>et al.</i> , 2015)

Legenda: HCH, hexaclorociclohexanos; DDT, dicloro-difenil-tricloetano; NaV, canais de sódio regulados por voltagem; AChE, enzima acetilcolinesterase; SNC, sistema nervoso central; AHJ; análogos de hormônio juvenil; nAChR, receptor nicotínico de acetilcolina.
Fonte: Elaborada pelos autores, 2024.

Avanços recentes

Kushwah *et al.* (2020) identificaram uma nova mutação no alelo F1534L, foi encontrada em populações de *Ae. aegypti* de Bengaluru (Índia), co-ocorrendo com F1534C, S989P e V1016G de resistência kdr no canal de sódio controlado por voltagem de mosquitos *Ae. aegypti*. O sequenciamento de DNA de o VGSC revelou a presença de quatro mutações kdr, ou seja, S989P e V1016G no domínio II e dois kdr alternativos mutações F1534C e F1534L no domínio III. Os alelos F1534C e

F1534L estão geneticamente associados à resistência à permetrina. Os achados de uma nova mutação têm implicações no controle e monitoramento da resistência.

Zuharah e Sufan (2021) identificaram um relacionamento de resistência kdr no sítio A1007G em *Ae. aegypti* da Malásia, usando o bioensaio com insetos adultos, testaram a resistência fenotípica contra 0,75% de permetrina, 0,05% de deltametrina com e sem a adição de sinérgico PBO, submetidos a análise de genotipagem no ponto de mutação no domínio II e domínio III do canal de sódio controlado por voltagem (VGSC). Bioensaios revelaram que o *Ae. aegypti* era altamente resistente a 0,75% de permetrina e 0,05% de deltametrina. Os resultados de genotipagens mostraram que três mutações kdr (S989P, V1016G e F1534C) existiram nas populações de *Ae. aegypti*. Este estudo revelou uma nova mutação no sítio A1007G nesta população, que é a primeira vez relatada, trazendo uma informação sobre o estado atual da resistência em populações de *Ae. aegypti* na Malásia. A detecção de novo sítio de mutação de A1007G incrementou o conhecimento sobre a resistência em mosquitos e subsidiará as esferas de governo na tomada de decisão sobre melhor inseticida no controle desses vetores.

Existem alternativas genéticas que ganharam espaços em pesquisas e obtêm resultados satisfatórios como a modificação genética clássica é a Técnica de Inseto Estéril (SIT) iniciada pelo entomologista norte-americano Edward F. Knippling em 1955 [197] e melhorada pela Agência Internacional de Energia Atômica e pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (Mcgraw e O'Neill, 2013).

Com as modernas tecnologias moleculares e genéticas, duas estratégias estão sendo usadas para melhorar as abordagens SIT. Um deles é a liberação de insetos portadores de um gene letal dominante (RIDL), e o outro é o homing endonuclease genes (HEGs) (Mcgraw; O'Neill, 2013; Zhu *et al.*, 2016).

O RNAi como método de silenciamento de genes específicos de sequência abriu uma nova era para a genômica funcional reversa e a pesquisa genética em muitos organismos eucarióticos. A abordagem de perda de função mediada por RNA de fita dupla (dsRNA) pode ser

usada como uma nova tática inseticida em combinação com outras táticas existentes para gerenciar a resistência a inseticidas em ecossistemas agrícolas e urbanos (McGraw; O'Neill, 2013; Zhu *et al.*, 2016).

Avanços recentes em tecnologias genômicas e genéticas facilitaram o desenvolvimento de estratégias alternativas de manejo urbano de pragas, incluindo a investigação do monitoramento da resistência a inseticidas baseada em biomarcadores, a modificação genética de populações de pragas selvagens e inseticidas à base de RNAi. Além disso, o recente desenvolvimento crescente de biopesticidas oferece um grande potencial para reduzir o uso de inseticidas sintéticos e aumentar a eficiência do controle nos ecossistemas urbanos. A combinação dessas tecnologias alternativas com abordagens de controle químico que foram validadas quanto à eficácia no manejo urbano de pragas otimizará as atividades atuais de controle de pragas urbanas e poderá potencialmente atrasar o desenvolvimento da resistência a inseticidas (Zhu *et al.*, 2016; Cosme *et al.*, 2020).

Inseticidas à base de *RNAi*

O RNAi como método de silenciamento de genes específicos de sequência abriu uma nova era para a genômica funcional reversa e a pesquisa genética em muitos organismos eucarióticos. A abordagem de perda de função mediada por RNA de fita dupla (dsRNA) pode ser usada como uma nova tática inseticida em combinação com outras táticas existentes para gerenciar a resistência a inseticidas em ecossistemas agrícolas e urbanos (Gatoon *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2016; Cosme *et al.*, 2020).

O desenvolvimento de inseticidas de RNAi pode ser rentável e ambientalmente benigno devido à sua alta especificidade. Os testes moleculares podem ser realizados por reação em cadeia da polimerase ou técnicas de sequenciamento com DNA, ou análise transcriptômica com RNA. Existem muitos marcadores moleculares desenvolvidos para o monitoramento da resistência, como descrevemos na

seção anterior, incluindo mutações em genes-alvo como VGSC, AChE (Gatoon *et al.*, 2013; Achee *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2016).

Muitos fatores operacionais, como categorias de inseticidas usados, tempo de aplicação, taxa, cobertura e método, também são muito importantes na concepção de estratégias de IRM. Avanços recentes em tecnologias genômicas e genéticas facilitaram o desenvolvimento de ferramentas alternativas que fornecem grande potencial para o manejo populacional de insetos ecologicamente benignos e específicos da espécie. Além disso, os biopesticidas têm mecanismos variados de atividade que podem contribuir com defesas adicionais contra o desenvolvimento de resistência a inseticidas. Não existe uma tecnologia única que forneça uma solução abrangente para o IRM. O IRM deve incorporar várias táticas para alcançar um manejo urbano aceitável de pragas e reduzir o desenvolvimento de resistência a inseticidas (Zhu *et al.*, 2016).

Monitorando a resistência a inseticidas

A vigilância de mosquitos e o monitoramento da resistência a inseticidas conduzido pelo Distrito de Controle de Mosquitos de Florida utilizando tratamentos de volume ultrabaixo (ULV) com permetrina que ainda contém o inibidor de butóxido de piperonila (PBO) e ao organofosforado a bifentrina foi testada em conjunto com os inibidores enzimáticos PBO, maleato de dietila (DEM) e S.S.S.-tributilfosforotioato (DEF) e 100% de mortalidade foi observada aos 15 e 60 minutos respectivamente. A resistência à bifentrina foi reduzida com a adição de DEM e DEF, sugerindo que a glutathione transferase e a esterase estão envolvidas com a resistência (Hribar *et al.*, 2022).

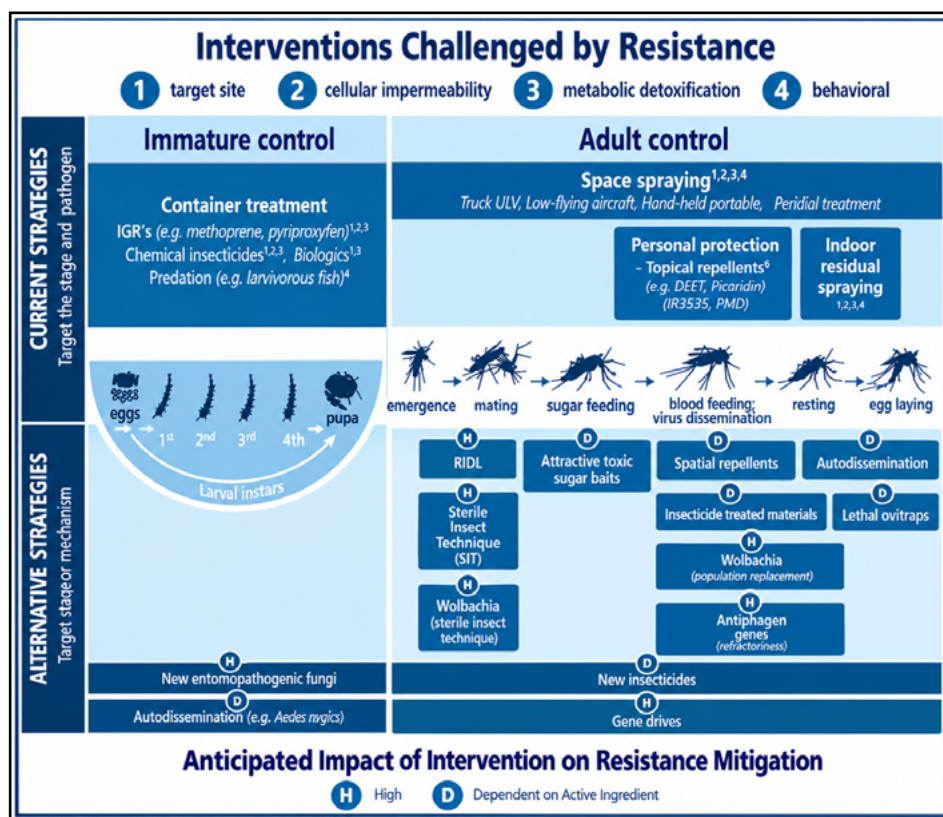
O status de resistência das populações de *Ae. aegypti* é importante para a seleção de inseticidas que respondam efetivamente a surtos como os de dengue, Chikungunya e Zika. Saber qual mecanismo específico é usado pelo mosquito para ganhar resistência pode ajudar na seleção de métodos de controle adequados. Também recomenda-

mos um programa de monitoramento de controle de mosquitos antes da tomada de decisões operacionais. E isso se faz com realização de bioensaios periódicos para detectar a resistência a inseticidas antes que ela se torne um problema (Hayd *et al.*, 2020).

Novas estratégias e classes de produtos estão sendo revisadas pelo Grupo Consultivo de Controle de Vetores (VCAG) da OMS. Além disso, o VCAG reuniu-se em Genebra em novembro de 2016 para revisar o novo controle potencial de vetores com base na ‘manipulação genética de mosquitos por meio da tecnologia de gene drive para reduzir as populações de vetores e a transmissão’; portanto, o gene drive faz parte do portfólio de ferramentas de controle vetorial (VCTs) em consideração pela OMS (WHO, 2017).

Os riscos de resistências precisam ser observados com cautela (**Figura 7**). As maneiras pelas quais as estratégias alternativas podem controlar os indivíduos resistentes a inseticidas, e estes testes estão disponíveis para medir e prever esse potencial de resistência em vários estágios do desenvolvimento do produto. Percebemos que faltam evidências sobre o impacto da resistência do sítio-alvo aos piretroides na eficácia da transflutrina (um repelente espacial piretroide) para reduzir infecções humanas em ambientes com populações de vetores resistentes, ou a eficácia do piriproxifeno contra insetos que superexpressam o citocromo P450 capazes de metabolizar piretroides (Achee *et al.*, 2019).

Figura 7 - Métodos de controle de arbovírus atuais e alternativos no contexto do estágio de vida alvo da implementação e impacto previsto no IRM.



Legenda: IGR, regulador de crescimento de insetos; IRM, manejo de resistência a inseticidas; RIDL, liberação de insetos com letalidade dominante; ULV, Pulverização de volume ultra-baixo.

Fonte: Achee et al., 2019.

Atualmente, o método mais eficaz para prevenir a transmissão de vírus transmitidos pelo *Ae. aegypti* é a eliminação de criadouros de mosquitos e o uso de inseticidas (principalmente domésticos) (Chediak, 2016; Hayd et al., 2020). Mas sabemos que esses produtos químicos são potenciais poluentes ambientais e determinadas populações de mosquitos têm através do processo de seleção natural indutiva pelo inseticida selecionando os indivíduos que apresentam essa resistência (Dusfour et al., 2019; Cosme et al., 2020), o que torna

a busca por novos compostos para controlar esse vetor um assunto relevante.

A resistência aos inseticidas é facilmente selecionada se o fenótipo é causado por alguns alelos dominantes que têm um maior efeito, em vez de múltiplos alelos recessivos. Mas os custos de aptidão/adaptação, associados aos alelos resistentes, são de grande importância, pois representam uma grande força evolutiva que impulsiona a reversão da resistência na ausência de seleção, aqui em nosso caso, o inseticida (Dusfour *et al.*, 2019; Hayd *et al.*, 2020).

Nesse caso, evidenciamos a rede mundial de resistência a inseticidas (WIN), que apoiada pela OMS, demonstrou sua capacidade de federar pesquisadores em todo o mundo, autoridades de saúde pública e partes interessadas para trabalharem juntos e estabelecer um plano global para melhorar o controle do vetor *Aedes* (Corbel *et al.*, 2016).

Uma montagem completa do genoma e uma anotação do conjunto de genes são extremamente importantes para a compreensão de aspectos da biologia do mosquito correlacionados com a transmissão de doenças, rastreando a base molecular da resistência a inseticidas em evolução e projetando e implantando estratégias de controle de mosquitos geneticamente baseadas, incluindo a técnica de insetos estéreis e unidades genéticas baseadas em CRISPR/Cas9 (Matthews, 2019).

Considerações finais

Para que as estratégias de controle, prevenção e tratamento das arboviroses urbanas sejam efetivas é fundamental o conhecimento de todos os elementos que conformam o seu estudo desde o domínio do habitat e costumes do vetor, as condições ambientais que envolvem o vetor e o hospedeiro, bem como seus mecanismos de resistência a inseticidas para melhor eficiência no controle.

É necessário um estudo estratégico sobre o vetor, o ambiente e a cultura local e propor ferramentas de controle eficazes para combater a disseminação de populações resistentes de *Ae. aegypti*.

Sugerimos campanhas específicas de educação em saúde para a população acerca do uso indiscriminado de inseticidas comerciais domésticos, disseminando os resultados e os efeitos do uso antrópico na pressão de seleção.

O sucesso do monitoramento e controle do *Ae. aegypti* inicia com a capacidade de detectar, acessar e eliminar os reservatórios, muitas vezes de difícil acesso em residências, o que torna a tarefa desafiadora, mas que necessita de um comprometimento da população.

Atualmente, o controle mecânico por meio da limpeza de quintais reduzindo os focos de proliferação de ovos e larvas e a educação em saúde continua sendo o meio mais eficaz para eliminação do mosquito.

Sugerimos que estudem a possibilidade de elaboração de inseticida piretroide com a formulação em conjunto com substâncias que ajudam a neutralizar enzimas que atuam na resistência metabólica, por exemplo o PBO-Butóxido de piperonilo inibidor do Citocromo P450. A diminuição na atividade enzimática que seria responsável por metabolizar, depositar e excretar os inseticidas contribuirá para diminuição da resistência nos indivíduos aos piretroides.

Sugerimos aos estados brasileiros um monitoramento constante da resistência aos inseticidas e novas estratégias de controle do *Ae. aegypti* com objetivo de minimizar os índices de prevalência das arboviroses urbanas transmitidas por este vetor.

Referências

- ACHEE, N. L.; GRIECO, J. P.; VATANDOOST, H.; SEIXAS, G.; PINTO, J.; CHING-NG, L.; MARTINS, A. J.; JUNTARAJUMNONG, W.; CORBEL, V.; GOUAGNA, C.; DAVID, J. P.; LOGAN, J. G.; ORSBORNE, J.; MAROIS, E.; DEVINE, G. J.; VONTAS, J. Correção: Estratégias alternativas para o controle de arbovírus transmitidos por mosquitos. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 7275, 2019.
- BELINATO, T. A.; MARTINS, A. J. Insecticide Resistance and Fitness Cost. In: Insecticides Resistance. **InTech**, Rio de Janeiro, p. 243-261, 2016.
- BECKER, N. P. D.; PETRIC, D.; ZGOMBA, M.; BOASE, C.; MADON, M.; DAHL, C.; KAISER, A. **Mosquitoes and their control**. 2nd ed. New York: Springer, 2010.
- BEATY, B. J.; MARQUARDT, W. C. **The biology of disease vectors**. Colorado: University Press of Colorado, 1996.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.
- BRITO, L.; CARRARA, L.; MACIEL-DE-FREITAS, R.; LIMA, J. B. P.; MARTINS, A. J. Levels of resistance to pyrethroid among distinct kdr alleles in *Aedes aegypti* laboratory lines and frequency of kdr alleles in 27 natural populations from Rio de Janeiro, Brazil. **BioMed Research International**, [S. l.], v. 11, p. 2410819, 2018.
- CHEDIAK, M. G.; PIMENTA, J. R. F.; COELHO, G. E.; BRAGA, I. A.; LIMA, J. B.; CAVALCANTE, K. R.; SOUSA, L. C.; MELO-SANTOS, M. A.; MACORIS, M. L.; ARAÚJO, A. P.; AYRES, C. F.; ANDRIGHETTI, M. T.; GOMES, R. G.; CAMPOS, K. B.; GUEDES, R. N. Levantamento espacial e temporal nacional da resistência a temephos em populações brasileiras de *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, p. 311-321, 2016.

CORBEL, V; FONSECA, D. M; WEETMAN, D; PINTO, J; ACHEE, N. L; CHANDRE, F; COULIBALY, M. B; DUSFOUR, I; GRIECO, J; JUNTARAJUMNONG, W; LENHART, A; MARTINS, A. J; MOYES, C; CHING, N. G. L; RAGHAVENDRA, K; VATANDOOST, H; VONTAS, J; MULLER, P; KASAI, S; FOUQUE, F; VELAYUDHAN, R; DUROT, C; JEAN-PHILIPPE, D. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 10, p. 1-16, 2017.

CORBEL, V; ACHEE, N. L; CHANDRE, F; COULIBALY, M. B; DUSFOUR, I; FONSECA, D. M; GRIECO, J; JUNTARAJUMNONG, W; LENHART, A; MARTINS, A. J; MOYES, C; NG, L. C; PINTO, J; RAGHAVENDRA, K; VATANDOOST, H; VONTAS, J; WEETMAN, D; FOUQUE, F; VELAYUDHAN, R; DAVID, J. P. Tracking Insecticide Resistance in Mosquito Vectors of Arboviruses: The Worldwide Insecticide Resistance Network (WIN). **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 5054, 2016.

COSME, L. V; GLORIA-SORIA, A; CACCONI, A; POWELL, J. R; MARTINS, A. J. Evolution of kdr haplotypes in worldwide populations of *Aedes aegypti*: Independent origins of the F1534C kdr mutation. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 14, n. 4, p.0008219, 2020.

DUSFOUR, I; VONTAS, J; DAVID, J. P; WEETMAN, D; FONSECA, D. M; CORBEL, V; RAGHAVENDRA, K; COULIBALY, M. B; MARTINS, A. J; KASAI, S; CHANDRE, F. Manejo da resistência a inseticidas nos principais vetores de arbovírus *Aedes*: avanços e desafios. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 13, 2019.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphate and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 87, p. 245-254, 1990.

GATTON, M. L; CHITNIS, N; CHURCHER, T; DONNELLY, M. J; GHANI, A. C; GODFRAY, H. C; GOULD, F; HASTINGS, I; MARSHALL, J; RANSON, H; ROWLAND, M; SHAMAN, J; LINDSAY, S. W. The importance of mosquito behavioural adaptations to malaria control in Africa. **Evolution**, [S. l.], v. 67, p. 1218-1230, 2013.

HAYD, R. L. N; CARRARA, L; LIMA, J. M; ALMEIDA, N. C, LIMA, J. B. P, MARTINS, A. J. Evaluation of resistance to pyrethroid and organophosphate adulticides and kdr genotyping in *Aedes aegypti* populations from Roraima, the northernmost Brazilian State. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 13, p. 264, 2020.

HARTL, D. L. **Princípios de genética de população**. 3 ed. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2008.

HRIBAR, L. J; BOEHMLER, M. B; MURRAY, H. L; PRUSZYNSKI, C. A; LEAL, A. L. Mosquito Surveillance and Insecticide Resistance Monitoring Conducted by the Florida Keys Mosquito Control District, Monroe County, Florida, USA. **Insects**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 927, 2022.

HEMINGWAY, J; HAWKES, N. J; MCCARROLL, L; RANSON, H. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 34, p. 653-665, 2004.

KAKANI, E. G; BON, S; MASSOUILIÉ, J; MATHIOPOULOS, K. D. Altered GPI modification of insect AChE improves tolerance to organophosphate insecticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 41, p. 150-158, 2011.

KUSHWAH, R. B. S; KAUR, T; DYKES, C. L; KUMAR, R; KAPOOR, N; SINGH, P. A new knockdown resistance (kdr) mutation, F1534L, in the voltage-gated sodium channel of *Aedes aegypti*, co-occurring with F1534C, S989P and V1016G. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 13, p. 327, 2020.

LINSS, J. G; BRITO, L. P; GARCIA, G. A; ARAKI, A. S BRUNO, R. V; LIMA, J. B; VALLE, D; MARTINS, A. J. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 7, n. 25, 2014.

LOPES, R. P. **Mutações relacionadas com resistência a inseticidas e diversidade de *Wolbachia pipientis* em populações de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 do Brasil**. 2020. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) — Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

MATTHEWS, B. J. *Aedes aegypti*. **Trends in Genetics**, [S. l.], v. 35, n. 6, p. 470-471, 2019.

MARTINS, A. J; LIMA, J. B. P; PEIXOTO, A. F; VALLE, D. Frequency of Val1016Ile mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* Brazilian populations. **Tropical Medicine & International Health**, [S. l.], v. 14, n. 11, p. 1351-1355, 2009.

MCGRAW, E. A, O'NEILL, S. L. Além dos inseticidas: Novo pensamento sobre um problema antigo. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 11, p. 181-193, 2013.

MOYES, C. L; VONTAS, J; MARTINS, A. J; CHING, N. G; KOOOU, S. Y; DUSFOUR, I; RA-GHAVENDRA, K; PINTO, J; CORBEL, V; DAVID, J. P; WEETMAN, D. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1-20, 2017.

MONTELLA, I. R; SCHAMA, R. VALLE, D. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance-a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 4, p. 437-449, 2012.

MORRISSEY, C. A; MINEAU, P; DEVRIES, J. H; SANCHEZ-BAYO, F; LIESS, M; CAVALLARO, M. C; LIBER, K. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates. **A review. Environment International**, [S. l.], v. 74, p. 291-303, 2015.

NARAHASHI, T; GINSBURG, KS; NAGATA, K; SONG, J. H; TATEBAYASHI, H. Ion channels as targets for insecticides. **Neurotoxicology**, [S. l.], v. 19, n. 4-5, p. 581-590, 1998.

NKYA, T. E; AKHOUAYRI, I; KISINZA, W; DAVID, J. P. Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: Facts, evidences and prospects. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 407-416, 2013.

O'NEILL, S. L; RYAN, P. A; TURLEY, A. P; WILSON, G; RETZKI, K; ITURBE-ORMAETXE, I; DONG, Y; KENNY, N; PATON, C. J; RITCHIE, S. A; BROWN-KENYON, J; STANFORD, D; WITTMEIER, N; JEWELL, N. P; TANAMAS, S. K; ANDERS, K. L; SIMMONS, C. P. Scaled deployment of *Wolbachia* to protect the community from dengue and other *Aedes* transmitted arboviruses. **Gates Open Research**, [S. l.], v. 2, n. 36, p. 1-30, 2019.

OSANAI, C. H. **A epidemia de Dengue em Boa Vista, território Federal de Roraima, 1981-1982**. 127 f. (Mestrado em Saúde Pública) — Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 1984.

PANINI, M; MANICARDI, G. C; MOORES, G. D; MAZZONI, E. An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects. **Invertebrate Survival Journal**, [S. l.], v. 13, p. 326–335, 2016.

RANSON, H; N'GUESSAN, R; LINES, J; MOIROUX, N; NKUNI, Z; CORBEL, V. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? **Trends in Parasitology**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 91-98, 2011.

RANSON, H; HEMINGWAY, J; BLACK, W. C. T. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*, **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 16, p. 785-798, 2007.

RAYMOND, M; HECKEL, D. G; SCOTT, J. G. Interactions between pesticide genes: model and experiment. **Genetics**, [S. l.], v. 123, p. 543-551, 1989.

THOMPSON, M; SHOTKOSKI, F; FRENCH-CONSTANT, R. Cloning and sequencing of the cyclodiene insecticide resistance gene from the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 235, p. 187-190, 1993.

VALLE, D; BELLINATO, D. F; VIANA-MEDEIROS, P. F; LIMA, J. B. P; MARTINS, A. J. Resistance to temephos and deltamethrin in *Aedes aegypti* from Brazil between 1985 and 2017. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 114, p. 180544, 2019.

VALLE, D; BELINATO, T. A; MARTINS, A. J. Controle químico de *Aedes aegypti*, resistência a inseticidas e alternativas. In: VALLE, D; PIMENTA, D. N; CUNHA, R. V. **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2015. p. 93-126.

VERA-MALOOF, F. Z; SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K; ELIZONDO-QUIROGA, A. E; LOZANO-FUENTES, S; BLACK, W. C. Coevolution of the Ile1,016 and Cys1,534 mutations in the voltage gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 9, n. 12, p. 1-22, 2015.

VIANA-MEDEIROS, P. F. **Investigação sobre mecanismos de resistência em larvas e adultos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762**. 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) — Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

WOOD, O. R; HANRAHAN, S; COETZEE, M; KOEKEMOER, L. L, BROOKE, B. D. Cuticle thickening associated with pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus*. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 3, n. 67, p. 1-7, 2010.

WEILL, M; MALCOLM, C; CHANDRE, F; MOGENSEN, K; BERTHOMIEU, A; MARQUINE, M; RAYMOND, M. The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 13, p. 1–7, 2004.

WHO – World Health Organization. **Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations**: Interim guidance for entomologists. Geneva: WHO – World Health Organization, 2020.

WHO – World Health Organization. **Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations**: interim guidance for entomologists. Geneva: WHO – World Health Organization, 2017.

WHO – World Health Organization. **Prequalified Vector Control Products**: clotianidina, baixa toxicidade para mamíferos, como um spray residual interno (IRS); Imidaclopride, como um composto de ultrabaixo volume. Geneva: WHO – World Health Organization, 2022.

ZHU, F; LAVINE, L; O'NEAL, S; LAVINE, M; FOSS, C; WALSH, D. Estratégias de resistência e manejo de inseticida em ecossistemas urbanos. **Insetos**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 2, 2016.

ZUHARAH, W. F; SUFAN, M. The discovery of a novel knockdown resistance (kdr) mutation A1007G on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Malaysia. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, p. 5180, 2021.





CAPÍTULO 5

POTENCIAL DE ÓLEOS DE PALMEIRAS NATIVAS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA E DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS SOCIAIS NO CONTROLE DE *AEDES AEGYPTI*

Roberto da Silva Cardoso

Arlefe Noite Ribeiro

Mateus de Jesus Silva Matos

Victor Hugo de Souza Marinho

Inana Fauro de Araújo

Irlon Maciel Ferreira

Introdução

O mosquito *Aedes aegypti* é inseto vetor responsável por doenças humanas viróticas, implicando a transmissão de patógenos responsáveis por causar doenças ao homem como, febre amarela, dengue, Zika e febre Chikungunya. O impacto na saúde humana está relacionado as condições ambientais durante a fase de crescimento larval e o conjunto das características biológicas, permitindo que o vetor seja eficiente na transmissão de doenças e, com potencial de disseminar novos tipos virais (Steinwacher, 2018; McGregor; Connelly, 2021).

A Organização Panamericana de Saúde (OPAS) destaca que mais de 500 milhões de pessoas nas Américas correm o risco de contrair dengue. A dengue cresceu drasticamente nas últimas décadas e, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), há uma estimativa de 50 a 100 milhões de casos de dengue anualmente no mundo, destes 500.000 evoluem para dengue grave e 25.000 a óbito (Bhatt *et al.*, 2013; Horstick; Tozan; Wilder-Smith, 2015).

No Brasil, foram notificados 1.409.951 casos prováveis de dengue em 2022, representando aumento de 165,36% em relação a 2021, em que foram feitas 531.336 notificações. A faixa etária mais atingida no país foi a de 20 a 39 anos, ocorrendo em 35,82% dos casos prováveis. Com relação à evolução dos casos, a maioria das notificações evoluiu com cura (1.131.730; 80,27%) (Ferreira *et al.*, 2023).

Assim, conhecer hábitos, comportamentos, resistência, adaptação, distribuição e toda a bioecologia do inseto vetor e transmissor dos vírus da dengue e outras doenças é essencial para entender a contribuição nas taxas de morbidade e mortalidade, além de otimizar recursos para o controle efetivo (Bhatt *et al.*, 2013).

Na década de 60, os governos lançaram campanhas para erradicar o vetor *Ae. aegypti* nas Américas. Contudo, algumas dessas campanhas não obtiveram êxito uma vez que as medidas de controle não foram mantidas por tempo suficiente. Isto demonstrou que os programas de controle são essenciais para mitigar o risco das doenças causadas por esse vetor, entretanto, desenvolvimentos e pesquisas

devem ser continuados devido à capacidade de adaptação e resiliência do inseto (Pliego-Pliego *et al.*, 2020).

Os fatores ambientais e climáticos, por exemplo, a temperatura, influenciam diretamente na fisiologia e comportamento de insetos como *Ae. aegypti*, entretanto, pode afetar também outros organismos não alvos. Neste aspecto, o inseto desenvolveu estratégias e processos adaptativos para se protegerem do estresse térmico, o que lhes permite vantagem ao colonizar vários habitats não convencionais (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). O *Aedes* spp. apresenta uma atividade maior durante período diurno, realizando o repasto sanguíneo ao amanhecer e entardecer. Entretanto, alguns autores relatam que esta espécie pode realizar vários repastos durante um único período gonotrófico (Delatte *et al.*, 2010; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

Os hábitos alimentares do *Ae. aegypti* o tornam uma espécie eficiente na transmissão de patógenos, sendo considerado um vetor competente para vários arbovírus, como dengue, Chikungunya, Zika, febre amarela. Os impactos e efeitos das mudanças climáticas e das condições ambientais estão contribuindo para que essa espécie desenvolva mais rapidamente a capacidade de veiculação dos patógenos e se disseminem para novas áreas, incluindo aquelas de abrangências não prováveis, devido a condição climática (Lafferty 2009; Vega-Rúa *et al.*, 2014; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

Todavia este vetor vive em áreas urbanas e periurbanas, o que inviabiliza sua redução populacional, principalmente, se tornando um desafio constante devido a poluição, falta de saneamento, descarte de lixo de forma inadequada, superpopulação, gerenciamento inadequado de água residual e outros que são fatores determinantes e, que contribuem para a rápida proliferação nessas regiões, principalmente urbanas (Lorenz; Chiaravalloti-Neto, 2022; Natal, 2002).

Os programas governamentais devem considerar a vigilância e controle contínuo do *Ae. aegypti*. Esta estratégia de controle populacional se torna cada vez mais importantes na atualidade, considerando que este é o principal vetor de doenças negligenciadas e de importância primeira para a saúde pública. Os insetos, além de terem acesso facilitado ao ambiente doméstico, recipientes com água e matéria or-

gânica para a maturação de ovos e larvas, possuem características antropofílicas, que facilita a reprodução, pois as fêmeas precisam do sangue (hematofagia) para a maturação de seus ovos (Barrera, 2022; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

No entanto, durante os últimos vinte anos, é notória a inovação no controle do vetor *Ae. aegypti*, tendo vários métodos com taxas de sucesso variadas, cujas principais categorias são: controle químico por inseticidas e larvicidas químicos, gestão de habitats, larvicidas não convencionais ou semissintéticos, técnicas de substituição populacional, métodos genéticos e outros (Lorenz; Chiaravalloti-Neto, 2022).

Pode-se considerar que as regiões possuem recursos potenciais fitoquímicos e outros para área farmacêutica e veterinária, por exemplo, para controle populacional de insetos vetores, pragas e patógenos. Todos estes recursos estão disponíveis, precisam ser conhecidos, avaliados e utilizados para estes fins, principalmente, na área da saúde pública. Por outro lado, o desenvolvimento de tecnologias sociais pode beneficiar as comunidades a partir do uso dos recursos disponíveis, simplicidade e baixo custo operacional. Nesse contexto, a tecnologia social é qualquer técnica, método ou produto surgido da interação entre os conhecimentos popular e científico e que, aplicados a uma determinada situação, tragam soluções efetivas para um grupo de pessoas ou comunidades.

Os extratos e óleos, principalmente a mistura de ésteres graxos a partir da atividade biológica, tamanho e distribuição das cadeias carbônicas, principalmente, insaturadas, oriundos de espécies vegetais com bioatividade tem sido considerado. Seguem na preferência, como fontes para novos bio-inseticidas, incluindo como modelos moleculares de sínteses orgânicas e/ou combinações para potencializações de atividade biológica para o controle de insetos vetores ou pragas agrícolas. A literatura demonstra que alguns ativos biológicos naturais são seletivos, possuem baixo efeito aos organismos não alvos e reduzido impacto ao meio ambiente (Marinho *et al.*, 2023).

Óleos Amazônicos: ocorrência e propriedades

O Brasil é detentor de uma vasta biodiversidade de plantas, uma das maiores do planeta. Elas estão distribuídas em diversos biomas como a floresta Amazônica, a Mata Atlântica, o Pantanal e a Caatinga. Esses biomas possuem o solo e o clima com características distintas (Silva; Oliveira, 2021).

O bioma amazônico, um dos mais importantes do mundo por sua biodiversidade e importância ambiental, possui uma área de 4,2 milhões de Km², representando cerca de 30% das florestas tropicais do planeta, com grandes potencialidades devido ao seu grande acervo de recursos genéticos que podem ser aproveitados de forma responsável, contribuindo para o desenvolvimento local e regional (Vilela; Callegaro; Fernandes, 2019).

Entre as diversas matrizes de oleaginosa encontradas na região norte do país, temos a família das *Arecaceae*, cujas espécies possuem gorduras e óleos ricos em ácidos graxos. A família *Arecaceae* Schult. é constituída por um grupo de espécies comumente conhecido como palmeiras (Silva; Oliveira, 2021). As *Aracaceae*, conhecida também como *Palmae*, é uma família composta por 3.000 mil espécies de palmeiras no mundo. O Brasil possui cerca de 390 espécies sendo a maior parte nativa da Amazônia, onde é reconhecida cerca de 41 gêneros tendo sido catalogadas cerca de 146 espécies (Reflora, 2024). Essas espécies estão distribuídas entre as florestas densas e abertas, várzeas, campos de várzeas, campinas e campinaranas, desempenhando diversas funções na estrutura desses ecossistemas (Lorenzi, 2010).

Os produtos e subprodutos provenientes das diversas palmeiras amazônicas, como óleos e gorduras vegetais, possuem várias aplicações e estão ligados diretamente a expansão da economia tanto do ponto de vista local, nacional e até mesmo internacional. Desse modo, a maioria desses produtos e subprodutos possui autorização legal para venda em diversos estabelecimentos comerciais (Santos *et al.*, 2017). Para a Amazônia brasileira, as palmeiras representam um

recurso vegetal de suma importância tanto para a qualidade de vida como para os diversos costumes das comunidades tradicionais dessa região (Brandão; Castro; Futemma, 2019).

Entre os produtos com potencial biotecnológico oriundo das palmeiras da região amazônica destacam-se os óleos e as gorduras vegetais. Esses produtos são denominados produtos florestais não madeireiros sendo explorados pelo homem há milhares de anos através do extrativismo vegetal (Homma, 2012). Os óleos e as gorduras vegetais apresentam-se como opção atrativa de exploração devido à grande abundância de palmeiras que ocorrem ao longo de todo o estuário amazônico (Newton; Watkinson; Peres, 2011).

A maioria dos óleos obtidos das palmeiras é utilizada como insumo para as indústrias cosméticas, farmacêuticas, alimentícias e têxteis para, em parte, entrar na formulação/composição de perfumes, produtos de higiene pessoal e de beleza, corantes, alimentos funcionais, biocombustíveis e outros (Meneguetti; Meneguetti; Siviero, 2019). Entretanto, existem óleos vegetais que não são oriundos de palmeiras, mas que geram e possuem potencial para produtos com alto valor agregado que pode beneficiar a região e comunidades do entorno, como é o caso dos óleos de andiroba e de copaíba (Ferreira *et al.*, 2019), que além possuírem várias aplicações biológicas, ainda são utilizados na produção de diferentes produtos, dispositivos e até velas repelentes contra o mosquito *Ae. aegypti* (Marinho *et al.*, 2023).

Dentre a diversidade de palmeiras encontradas na Região Amazônica, destaca-se de forma regional, nacional e internacional as espécies *Mauritia flexuosa* L.f. (buriti), *Astrocaryum murumuru* Mart. (murumuru), *Euterpe oleracea* (açai), *Acrocomia aculeata* (Lacq.) Lodd. ex Mart. (macaúba), entre outras (**Figura 1**).

Figura 1 - Palmeiras produtoras de recursos biotecnológicos na Amazônia.



Fonte: A) Museu do Cerrado, 2024; B) Cosmetic Ingredients and complexes, 2024; C) Furta-
do, 2011; D) Univasf, 2021.

Vários trabalhos já descreveram que os óleos ou as gorduras (**Figura 2**), provenientes dessas palmeiras possuem diversas atividades biológicas, nos quais, muitas vezes, relacionadas a outras biomoléculas que compõe e reforçam outras atividades biológicas. Estes produtos podem possuir atividades biológicas e ser utilizados como veículos para absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D e K), ou ainda contribuir e/ou participar na produção de hormônios como o cortisol, estrógeno, progesterona entre outros para usos farmacêuticos (Monego, 2009).

Figura 2 - Óleos vegetais a partir de oleaginosas amazônicas. A) sérum de Murumuru; B) Óleo de Macacaúba; C) Óleo de Açaí.



Fonte: A) Riquezas da Terra, 2024; B) Oleoterapia, 2024; C) Eco Care, 2024.

A palmeira *Mauritia flexuosa* L., é conhecida popularmente como buritizeiro. É uma das palmeiras de grande importância econômica na Amazônia, pois seu fruto possui teores consideráveis de carotenoides, polifenóis e ácido ascórbico. Neste, a quantidade de β -caroteno é superior ao encontrado na cenoura e na couve, a fração lipídica do fruto é composta de tocoferol e óleos com predominância dos ácidos graxos oleico e palmítico (Nascimento-Silva; Silva; Silva, 2020). O óleo possui propriedades que se mostram eficientes para diversas aplicações nas áreas médicas como: cicatricial, antibacteriano, antiplaquetário, antitrombótico, antioxidante, antimicrobiano, aumento da viabilidade celular de fibroblastos (Batista et al., 2012).

A palmeira *A. murumuru* Mart., conhecida popularmente como murumuruzeiro se destaca entre as diversas palmeiras amazônicas por produzir diversos produtos que movimentam a economia local (Alvez-Valles et al., 2018). O seu fruto é composto por 42 % de gordura sólida, além de carotenoides e outros componentes (Bezerra, 201). A gordura do murumuruzeiro em pequenos tamanhos de partículas é capaz de formar um sistema de alta penetrabilidade na pele tornando-o uma ótima opção na veiculação de formulações para uso farmacêutico e cosméticos, que foi confirmado que nanopartículas da gordura de murumuru tem potencial para uso como sistema de encapsulamento de compostos bioativos solúveis em lipídios (Gomes; Vicente; Pinho, 2014).

A palmeira *E. oleracea* Mart., conhecida como açaizeiro, destaca-se entre os diversos recursos biológicos vegetais da Amazônia pelo potencial de uso industrial (Miranda et al., 2010). A polpa oriunda dos frutos apresenta substâncias bioativas como flavonoides, polifenóis e outros, sendo encontradas também antocianinas como, as cianidina 3-rutinosídeo, cianidina 3-sambubiosídeo, peonidina 3-rutinosídeo, delphinidina 3-glucosídeos, cianidina 3-glucosídeos e pelargonidina 3-glucosídeos (Yamaguchi et al., 2015).

O óleo de açaí possui compostos com potencial biológico agregado, tal como profilático no combate à aterosclerose, além de ser um potente antioxidante natural e, importante na eliminação de radicais livres, e favorece o fluxo intestinal por possui uma grande quantidade

de de fibras e elevados teores de potássio, cálcio e pigmentos que favorecem a circulação sanguínea e previne doenças cardiovasculares (Rocha, 2015).

A palmeira *A. aculeata* (Jacq.) Lodd, conhecida comumente como macaúba, possui frutos ricos em carotenoides e rico em óleos vegetais insaturados. Cerca de 70% de óleo é encontrado no seu mesocarpo (Cocinini, 2012). O óleo de macaúba apresenta potencial biotecnológico, podendo ser utilizado na indústria energética na produção de biodiesel, combustível obtido de fontes renováveis, além de produtos de maior valor agregado. Esse óleo pode ser usado para a produção de sabão, alimentação humana como substituto do azeite de oliva e, aplicações cosméticas e farmacêuticas (Navarro-Díaz *et al.*, 2014).

A relação de ácidos graxos alquílicos com a vetor *Aedes aegypti*

Os ácidos graxos, fosfolipídicos, fito-esteroides, triacilgliceróis e tocoferóis representam a composição, majoritária, de substâncias orgânicas presentes nos extratos oleosos de frutos das palmeiras amazônicas. Em geral, os ácidos graxos são divididos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados (Sook; Kar, 2020). Há diferentes ácidos graxos aprovados pelo FDA dos EUA como aditivos alimentares desde 1965 (Dunford *et al.*, 2016) e, estes são categorizados como "seguro" do ponto de vista citotóxico.

A combinação dos ácidos octanóico (C8:0), nonanóico (C9:0) e decanóico (C10:0) mostrou ter atividade biológica, repelência seletiva ou efeito tóxico contra diferentes insetos: moscas domésticas, moscas picadoras, carrapatos, formigas e mosquitos (Reifenrath, 2006), enquanto aranhas, abelhas, abelhas melíferas e vespas foram relativamente insensíveis aos seus efeitos biológicos (Reifenrath, 2001).

As atividades biológicas induzidas por esses ácidos graxos na estrutura lipídica da membrana celular são importantes e envolvem mudanças na fluidez da membrana, comportamento de fase, permea-

bilidade, fusão da membrana, pressão lateral e dinâmica flip-flop, em alguns casos provocando a lise celular, sendo um dos possíveis mecanismos de ação nas larvas de *Ae. aegypti* e, possivelmente, contribuem para a sua toxicidade.

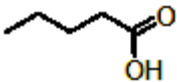
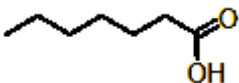
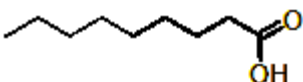
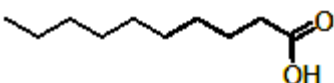
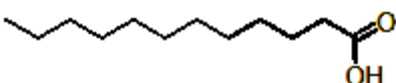
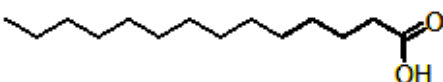
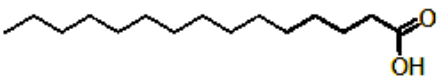
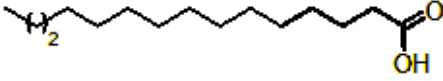
No entanto, os lipídios são moléculas importantes para o processo de reprodução do mosquito, como fonte de energia para o embrião em desenvolvimento, fatores de resistência ou suscetibilidade a vírus. No mosquito fêmea, o metabolismo lipídico está conectado com o ciclo gonadotrófico, e os níveis de ácidos graxos livres como C16:0 e C18:1 atuam como dois dos fatores reguladores do metabolismo lipídico.

O trabalho de Kaczmarek *et al.* (2021) indicou diferenças significativas nos perfis lipídicos (qualitativo e quantitativo) de ácidos graxos livres nas fêmeas dos vetores *Ae. aegypti* alimentados com sangue (hematofagia) humano e sangue de ovelha. O grupo alimentado com sangue de ovelha apresentou maior teor de ácidos graxos totais, tanto na cutícula e no organismo do mosquito. O contrário foi observado no grupo de fêmeas alimentadas com sangue humano. Nos experimentos foram identificados 21 ácidos graxos livres, a partir de C5:0 a C20:0, treze saturados (C5:0, C6:0, C7:0, C8:0, C9:0, C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0 e C20:0) e oito formas insaturadas (C14:1, C16:1, C17:1, C18:3, C18:2, C18:1, C20:5 e C20:4) (**Tabela 1**).

Essa diferença de absorção e metabolização dos ésteres graxos e subprodutos podem influenciar em diferentes aspectos metabólicos com repercussões na fertilidade, processos vitais do mosquito e, até na resposta biológica a inseticidas ou ação de moléculas biologicamente ativas. O grupo alimentado com sangue de ovelha demonstrou concentrações 3,1 vezes maiores de ácidos graxos livres na fração cuticular e 1,4 vezes a fração interna do que o grupo alimentado com o sangue humano. Outro resultado interessante foi na concentração de ácido graxos C18:3, com 223 vezes maior na fração interna em relação a cutícula. Pode-se, assim, demonstrar a importância dos ácidos graxos, ésteres e outros fitoquímicos, que possuem atividade biológica

e/ou potenciais usos em estratégias de controle e/ou formulação de produtos inseticidas ou biologicamente ativos, para diferentes propósitos, nestes incluindo o controle populacional de insetos vetores e pragas agrícolas.

Tabela 1 - Nome, estrutura química e fórmula molecular de ácidos graxos saturados e insaturados.

Abreviação	Nome	Estrutura química	Fórmula molecular
C5:0	Ácido valérico		C ₅ H ₁₀ O ₂
C6:0	Ácido cáproico		C ₆ H ₁₂ O ₂
C7:0	Ácido heptanoico		C ₇ H ₁₄ O ₂
C8:0	Ácido caprílico		C ₈ H ₁₆ O ₂
C9:0	Ácido nonanoico		C ₉ H ₁₈ O ₂
C10:0	Ácido cáprico		C ₁₀ H ₂₀ O ₂
C12:0	Ácido láurico		C ₁₂ H ₂₄ O ₂
C14:0	Ácido mirístico		C ₁₄ H ₂₈ O ₂
C15:0	Ácido pentadecanoico		C ₁₅ H ₃₀ O ₂
C16:0	Ácido palmítico		C ₁₆ H ₃₂ O ₂

Continua.

Tabela 1 - Nome, estrutura química e fórmula molecular de ácidos graxos saturados e insaturados.

Continuação.

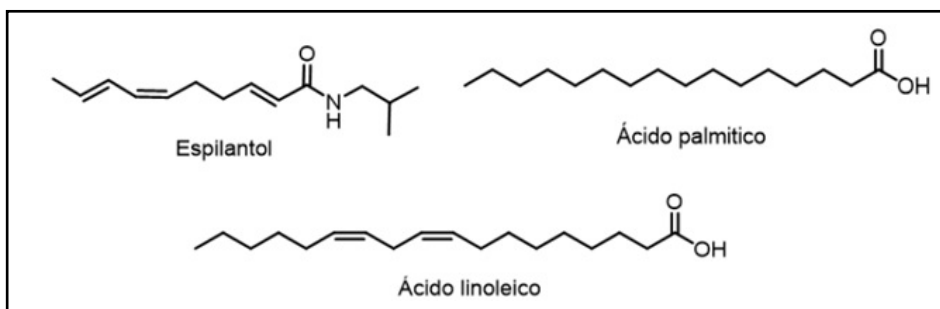
Abreviação	Nome	Estrutura química	Fórmula molecular
C17:0	Ácido heptadecanoico		C17H34O2
C18:0	Ácido esteárico		C18H36O2
C20:0	Ácido araquídico		C20H40O2
C14:1	Ácido tetradecenóico		C14H26O2
C16:1	Ácido palmitoleico		C16H34O2
C17:1	Ácido gínggólico		C22H34O3
C18:2	Ácido linoleico		C18H32O2
C18:1	Ácido vaccenico		C18H34O2
C20:5	Ácido eicosapentaenoico		C20H30O2
C20:4	Ácido Araquidônico		C20H32O2

Fonte: Elaborada pelos autores, 2024.

Atividade larvícida de óleos e derivados amazônicos sobre *Aedes aegypti*

Acmella oleracea (L.) R. K. Jansen, conhecida popularmente como jambu, tem suas folhas e talos consumidos na culinária amazônica. O jambu é rico em isobutilamidas bioativas, a molécula majoritária dessa espécie é a (2E,6Z,8E)-N-isobutil-2,6,8-decatrienamida, conhecida como espilantol (Rocha *et al.*, 2018) e alguns ácidos graxos livres, como o ácido linoléico e o ácido palmítico (**Figura 3**).

Figura 3 - Estruturas químicas de substâncias identificadas no extrato hidroetanólico das flores do jambu.



Fonte: Araújo *et al.*, 2018.

Araújo e colaboradores (2018) avaliaram a atividade larvícida do extrato hidroetanólico das folhas de *Acmella oleracea* contra larvas de 3º instar (L3) de *Ae. aegypti* e de *Culex quinquefasciatus*. O extrato hidroetanólico causou significativa mortalidade em ambas as espécies. Após 24 h de contato das larvas com o extrato, foram encontrados valores de CL_{50} de 11,41 µg/mL (ppm) para *Ae. aegypti* e 32,40 µg/mL (ppm) para *Cx. quinquefasciatus* (Araújo *et al.*, 2018).

Os estudos foram continuados por Araújo *et al.* (2020), os quais aprofundaram o estudo da atividade larvícida do extrato de jambu em larvas de *Ae. aegypti* com diferentes extratos (metanólico, hidroetanólico e hexânico) liofilizados de folhas de *Acmella oleracea* solubi-

lizados em solução de fibroína (seda). Essa é uma proteína de origem animal extraída do *Bombyx mori*, usada como alternativa de contenção e liberação de moléculas/solutos orgânicos no preparo de bioinseticidas não solúveis em meio aquoso. Sendo assim, os extratos quando combinados com a proteína da seda potencializaram seus efeitos larvicidas. Com CL_{50} 9,53 µg/mL (ppm) para o extrato hidroetanólico combinado com a proteína da seda e 5,45 µg/mL para o extrato hexânico, ambos em 48 h de exposição.

Os extratos vegetais quando combinados com a proteína da seda não apresentaram toxicidade para *Chlorella vulgaris* após 30 dias. Assim, o extrato de *A. oleracea* dissolvido em solução de fibroína pode ser uma alternativa para o controle de *Ae. aegypti* (Araújo et al., 2020).

O efeito de ácidos e ésteres graxos a partir do óleo *Carapa guianensis* Abul, andiroba, associados à proteína da seda foi avaliado contra as larvas do *Ae. aegypti* por Sarquis e colaboradores (Sarquis et al., 2020). O crescente interesse pelo uso da fibroína da seda (FS), como polímero de origem natural na substituição aos polímeros sintéticos, na obtenção de emulsões, nanopartículas ou encapsulação de materiais com baixa solubilidade no meio aquoso, ocorre por vários motivos, entre quais a FS estabelece um excelente sistema de entrega de compostos orgânicos bioativos, como drogas, peptídeos, proteínas, etc. (Holanda et al., 2023).

A FS é processada usando uma variedade de métodos para produzir formas como hidrogéis, filmes, microesferas, nanopartículas ou suporte enzimático (Ferreira et al., 2014).

As emulsões formuladas a partir do óleo vegetal pode conter maiores teores de ácidos graxos livres e de seus respectivos ésteres, em uma composição majoritariamente insaturadas, quando combinados em emulsão com a proteína da seda, apresentaram os melhores resultados contra as larvas de *Ae. aegypti* após um período de 48 h com CL_{50} de 16,79 mg/mL (ppm), causando alterações estruturais e metabólicas no inseto vetor (**Figura 4**).

Figura 4 - Imagens de microscópio óptico de larvas de *Aedes aegypti*. A) controle negativo e B) com tratamento, após 24 horas de contato com nanoemulsão do óleo de andiroba. Tubo digestivo (Dg); Sifão respiratório (Se) e Papila anal (Ap).



Fonte: Sarquis *et al.*, 2020.

A partir dos estudos e dados da literatura pode-se sugerir que a matriz biopolimérica de FS pode aumentar a biodistribuição e biodisponibilidade do ativo em meio aquoso e a toxicidade para o organismo alvo. Neste mesmo estudo, Sarquis e colaboradores (2020) demonstraram que o óleo *in natura* de Andiroba não apresenta atividade significativa.

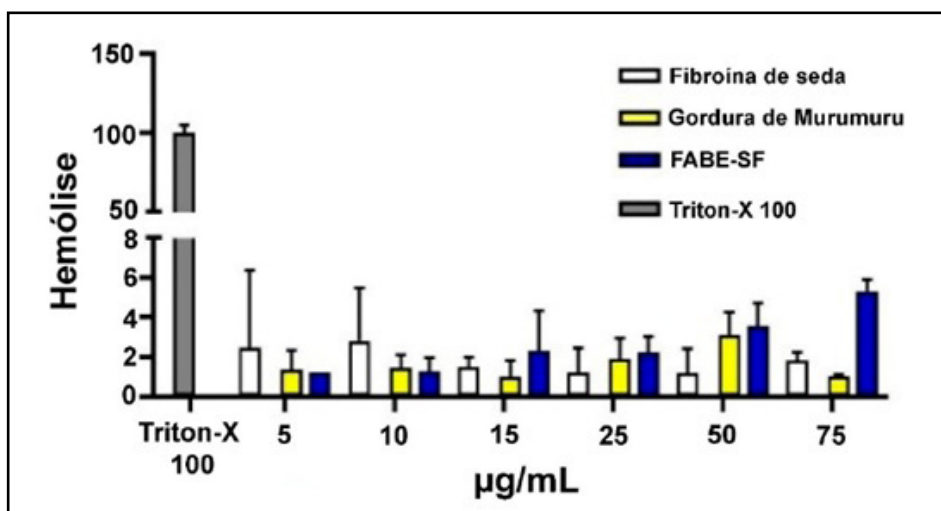
O trabalho de Sarquis *et al.* (2020) permite um leque promissor de aplicações para o potencial da proteína da seda como veículo para bioativos, principalmente, se considerarmos a atividade larvicida no controle populacional de *Ae. aegypti* e outros insetos vetores nos criadouros domésticos. No entanto, ainda seria importante determinar algumas propriedades físico-químicas da nanopartícula para melhor

relacionar e esclarecer seu papel na formulação; principalmente o tamanho médio e distribuição de partículas.

Assim, foram desenvolvidas nanopartículas de fibroína da seda contendo ésteres graxos etílicos (FAEE-SF), propílicos (FAPE-SF) e butílicos (FABE-SF) obtidas a partir da gordura de *A. murumuru* Mart. aplicadas contra as larvas de *Ae. aegypti* (Marinho *et al.*, 2022). A nanopartícula, contendo ésteres graxos butílicos (1%), proteína da seda (94%) e etanol: propanol (5%) induziu uma maior taxa de mortalidade em *Ae. aegypti* após 48 horas ($CL_{50}=21,35 \mu\text{g/mL}$; ppm) quando comparado ao bioativo solubilizado em DMSO ($CL_{50}=60,08 \mu\text{g/mL}$; ppm).

A estabilidade da nanopartícula foi monitorada por 21 dias, e FABE-SF exibiu maior estabilidade ao longo deste período, com valores médios de partícula, potencial Zeta e PDI em torno de $217,5 \pm 0,85 \text{ nm}$, $-25,6 \pm 3,24 \text{ mV}$ e $0,338 \pm 0,01$, respectivamente. Em termos de estabilidade coloidal, considera-se que altos valores + ou - de potencial Zeta exibem estabilidades maiores na dispersão. Além disso, pode-se demonstrar pelos resultados experimentais, em porcentagem de hemólise, que a nanopartícula de fibroína exibiu baixa capacidade de gerar hemólise nas concentrações testadas, apresentando menos de 6%, mesmo em sua maior concentração ($75 \mu\text{g/mL}$; ppm) em comparação à solução de Triton-X (controle positivo). A solução de fibroína da seda utilizada como controle negativo não apresentou lise de eritrócitos, sugerindo uma excelente biocompatibilidade, comportando-se como uma emulsão de caráter estável, biocompatível e sustentável (**Figura 5**).

Figura 5 - Atividade hemolítica da gordura de *Astrocaryum murumuru*, da solução de fibroína de seda e da nanopartícula (FABE-SF) em eritrócitos de camundongos ação dos ácidos graxos.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2024.

Considerações finais

Os derivados de ácidos graxos alquílicos, são moléculas de composição química simples, abundantes e disponíveis. As plantas oleaginosas presentes na região Amazônica podem agregar valores ao bioma e trazer benefícios socioeconômicos e ambientais, além de recursos como os frutos conhecidos para a obtenção de misturas ricas em composição diferenciada de ácidos graxos e outros derivados alquílicos (amidas graxas, triglicerídeos e ésteres alquílicos) que são encontradas nos vegetais amazônicos. A contribuição dos pesquisadores e a necessidade de encontrar novos biocidas ou formulações "seguras", com elevada seletividade ao inseto vetor, *Ae. aegypti*, podem permitir o uso livre ou combinado de ácidos graxos a partir de tamanhos, tipos e distribuição das cadeias graxas e/ou dos derivados

(sintéticos, semissintéticos ou até naturais) alquílicos para emprego em diferentes áreas do conhecimento, incluindo os usos inseticidas para o controle populacional de insetos vetores e praga agrícolas. A barreira hidrofóbica deve ser superada, pois ainda é um desafio que pode ser alinhado com a oportunidade de potencializar os efeitos larvicidas das substâncias. Assim, pode ser considerados processos de neutralização parcial ou total e até emulsões por diferentes técnicas e, que muitas vezes, não tem sido considerado nas formulações, apesar de serem conhecidos e estarem disponíveis.

Por outro lado, a questão ambiental é sensível e, nosso grupo de pesquisa (LabBiorg) centra esforços em incorporar os ativos biológicos em dispositivos, matrizes ou substratos com FS, considerada um biomaterial que possui baixa citotoxicidade celular, biocompatibilidade e, pode incorporar diferentes perfis lipídicos desses óleos amazônicos. Por fim, surge então a solução por biocidas, inseticidas ou bioativos não convencionais que estejam disponíveis e, possam ser formulados e, sejam capazes de conter a proliferação do mosquito e/ou reduzir a densidade populacional do inseto vetor. Assim, os biomas, i.e. florestas e toda a região amazônica com recursos vegetais e instituições podem ser parte da solução e, contribuir na resolução desse grave problema de saúde pública, considerando recursos e as diferentes áreas do conhecimento que resultem em aplicações industriais e farmacêuticas.

Referências

- ALVEZ-VALLES, C. M; BALSLEV, H; CARVALHO, F. A; GARCIA-VILLACORTA, R; GRANDEZ, C; MENINI NETO, L. Endemism and conservation of Amazon palms. **Biodiversity and Conservation**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 765-784, 2018.
- ARAÚJO, I. F; LOUREIRO, H. A; MARINHO, V. H. S; NEVES, F. B; SARQUIS, R. S. F; FAUSTINO, S. M. M; YOSHIOKA, S. A; FERREIRA, R. M. A; SOUTO, R. N. P; FERREIRA, I. M. Larvicidal activity of the methanolic, hydroethanolic and hexanic extracts from *Acmella oleracea*, solubilized with silk fibroin, against *Aedes aegypti*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S. l.], v. 24, p. 101550, 2020.
- ARAÚJO, I. F; ARAÚJO, P. H. F; FERREIRA, R. M. A; SENA, I. D. S; LIMA A. L; CARVALHO, J. C. T; FERREIRA, I. M; SOUTO, R. N. P. Larvicidal effect of hydroethanolic extract from the leaves of *Acmella oleracea* L. R. K. Jansen in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **South African Journal of Botany**, [S. l.], v. 117, p. 134-140, 2018.
- BARRERA, R. New tools for *Aedes* control: mass trapping. **Current Opinion in Insect Science**, [S. l.], v. 52, p. 100942, 2022.
- BATISTA, J. S; OLINDA, R. G; MEDEIROS, V. B; RODRIGUES, C.M. F; OLIVEIRA, A. F; PAIVA, E. S; FREITAS, C. I. A; MEDEIROS, A. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.
- BEZERRA, V. S. **Considerações sobre a palmeira murumuruzeiro (*Astrocaryum murumuru* Mart.)**. Macapá: Embrapa Amapá, 2012. 6 p. (Embrapa Amapá. Comunicado técnico, 130). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/748470>. Acesso em: 15 maio 2026.
- BHATT, S; GETHING, P. W; BRADY, O. J; MESSINA, J. P; FARLOW, A. W; MOYES, C. L; DRAKE, J. M; BROWNSTEIN, J. S; HOEN, A. G; SANKOH, O; MYERS, M. F; GEORGE, D. B; JAENISCH, T; WINT, G. R; SIMMONS, C. P; SCOTT, T. W; FARRAR, J. J; HAY, S. I. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, [S. l.], v. 496, p. 504-507, 2013.

BRANDÃO, F; CASTRO, F; FUTEMMA, C. Between structural change and local agency in the palm oil sector: interactions, heterogeneities and landscape transformations in the Brazilian Amazon. **Journal of Rural Studies**, [S. l.], v. 71, p. 156-168, 2019.

COCININI, G. **Caracterização de frutos e óleos de polpa de macaúba dos biomas do cerrado e pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) — Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2012.

COSMETIC INGREDIENTS AND COMPLEXES GLOSSARY. **Astrocaryum Murumuru Seed Butter**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://inci.guide/essential-oils-fixed-plant-oils/astrocaryum-murumuru-seed-butter>. Acesso em: 02 out. 2024.

DELATTE, H; DESVARS, A; BOUÉTARD, A; BORD, S; GIMONNEAU, G; VOURCH, G; FONTENILLE, D. Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, a vector of Chikungunya on La Réunion. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 10, p. 249-258, 2010.

DUNFORD, J. C; FALCONER, A; LEITE, L. N; WIRTZ, R. A; BROGDON, W. G. Determination of insecticidal effect (LC_{50} and LC_{90}) of organic fatty acids mixture (c8910+silicone) against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 699-702, 2016.

ECO CARE. Óleo de Açaí. **Ecocarebio**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ecocarebio.com.br/oleos-vegetais/oleo-de-acai>. Acesso em: 02 out. 2024.

FERREIRA, A. M; SENA, I. S; MAGALHÃES, K. F; OLIVEIRA, S. L; FERREIRA, I. M; PORTO, A. L. M. Amazon oils from Andiroba (*Carapa* sp.) and Babassu (*Orbignya* sp.) for preparation biodiesel by enzymatic catalysis. **Current Biotechnology**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 428-437, 2019.

Ferreira, I. M; Nishimura, R. H. V; Souza, A. B. D. A; Clososki, G. C; Yoshioka, A. S; Porto, A. L. M. Highly enantioselective acylation of chlorohydrins using Amano AK lipase from *P. fluorescens* immobilized on silk fibroin-alginate spheres. **Tetrahedron Letters**, [S. l.], v. 55, n. 7, p. 5062-5065, 2014.

FERREIRA, T. B; PEREIRA, N. S; COSTA FERNANDES, M. C; MARQUES, M. A; CELESTINO, J. H; MAIA, D. O; ROCHA, F. C; SILVA NETO, F. A, RAMOS, L. A; SILVA, T. A; PONTE, P. S. M. C; BACHUR, T. P. R. Perfil epidemiológico da dengue no Brasil em 2022. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 27, p. 103564, 2023.

FURTADO, A. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.): sobrevivência alimentar e econômica dos ribeirinhos de Ananindeua. **Blog Adrielson Furtado**, Ananindeua, PA, 2011. Disponível em: <https://adrielsonfurtado.blogspot.com/2011/05/acai-euterpe-oleracea-mart.html>. Acesso em: 20 maio 2024.

GOMES, G.; VICENTE, A. A.; PINHO, S. Evaluation of betacarotene bioaccessibility encapsulated in lipid nanoparticles produced with murumuru (*Astrocaryum murumuru*) butter by an in vitro dynamic gastrointestinal model. **World Congress of Food Science and Technology**. No. MP32.5, Montreal, Canadá, 2014. 23p.

HOLANDA, F. H; PEREIRA, R. R; MARINHO, V. H. S; JIMENEZ, D. E. Q; COSTA FERREIRA, L. M. M; RIBEIRO-COSTA, R. M; DE SOUSA, F. F. O; FERREIRA, I. M. Development of nanostructured formulation from naringenin and silk fibroin and application for inhibition of lipooxygenase (LOX). **RSC Advances**, [S. l.], v. 13, n. 33, p. 23063-23075, 2023.

HOMMA, A. K. O. Plant extractivism or plantation: what is the best option for Amazonia? **Estudos Avançados**, [S. l.], v. 26, n. 74, p. 167-186, 2012.

HORSTICK, O; TOZAN, Y; WILDER-SMITH, A. Reviewing dengue: still a neglected tropical disease? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 3632, 2015.

KACZMAREK, A; WROŃSKA, A. K; BOGUŚ. M. I; KAZEK, M; GLINIEWICZ, A; MIKULAK, E; MATŁAWSKA M. The type of blood used to feed *Aedes aegypti* females affects their cuticular and internal free fatty acid (FFA) profiles. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 0251100, 2021.

LAFFERTY, K. D. The ecology of climate change and infectious diseases. **Ecology**, [S. l.], v. 90, p. 888-900, 2009.

LORENZ, C; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Control methods for *Aedes aegypti*: Have we lost the battle? **Travel Medicine and Infectious Disease**, [S. l.], v. 49, p. 102428, 2022.

LORENZI, H. **Flora Brasileira – Areaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa: Plantarum, 2010. 384 p.

MARINHO, V. H. S; NEVES, F. B; JIMENEZ, D. E. Q; OLIVEIRA, F. R; SANTOS, A. V. T. DE. L.T. DOS; FERREIRA, R. M. A; SOUTO, R. N. P; CARVALHO, J. C. T; YOSHIOKA, S. A; FERREIRA, I. M. Development of an environmentally friendly formulation of silk fibroin combined with fatty acid from *Astrocaryum murumuru* Mart. effective against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], v. 75, p. 103626, 2022.

MARINHO, V. H. S; HOLANDA, F. H; ARAÚJO, I. F; JIMENEZ, D. E. Q; PEREIRA, R. R; PORTO, A. L. M; FERREIRA, A. M; CARVALHO, J. C. T; FREITAS, A. C. G. A. DE; FERNANDES, C. P; SOUTO, R. N. P; FERREIRA, I. M. Nanoparticles from silk fibroin and Amazon oils: Potential larvicidal activity and oviposition deterrence against *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 203, p. 117133, 2023.

MCGREGOR, B. L; CONNELLY, C. R. A review of the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the continental United States. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 58, n. 1, p. 10-25, 2021.

MENEGUETTI, N. F. P; MENEGUETTI, D. U. O; SIVIERO, A. Biotechnological potential of the *Carapa guianensis*, *Bertholletia excelsa* and *Copaifera* spp. oils. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S. l.], v. 13, n. 17, p. 413-422, 2019.

MIRANDA, I. P. A; GUILLAUMET, J; BARBOSA, E. M; RODRIGUES, M. R. L; SILVA, M. F. F. **Ecossistemas florestais em áreas manejadas na Amazônia**. 2. ed. Manaus: Editora INPA, 2010. 196 p.

MONEGO, M. A. **Goma da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) para uso como hidrócoloide na indústria alimentícia**. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) — Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

MUSEU DO SERRADO. **Buriti palmeira**. Museu do Cerrado. 2024. Disponível em: <https://museucerrado.com.br/biodiversidade/flora/palmeiras/buriti/>. Acesso em: 02 out. 2024.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R; SILVA, F. A; SILVA, M. R. Physicochemical composition and antioxidants of buriti (*Mauritia flexuosa* Linn. F.) pulp and sweet. **Journal of Bioenergy and Food Science**, [S. l.], v. 7, e2792019JBFS, p. 1-12, 2020.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, [S. l.], v. 64, p. 205-207, 2002.

NEWTON, P; WATKINSON, A. R; PERES, C. A. Determinants of yield in a non-timber forest product: Copaifera oleoresin in Amazonian extractive reserves. **Forest Ecology and Management**, [S. l.], v. 261, p. 255-264, 2011.

NAVARRO-DÍAZ, H. J; GONZALEZ, S. L; IRIGARAY, B; VIEITEZ, I; JACHMANIÁN, I; HENSE, H; OLIVEIRA, J. V. Macauba oil as an alternative feedstock for biodiesel: Characterization and ester conversion by the supercritical method. **The Journal of Supercritical Fluids**, [S. l.], v. 93, p. 130-137, 2014.

OLEOTERAPIA. Macacaúba. **Oleoterapia Brasil**, Salvador, 2024. Disponível em: <https://www.oleoterapiabrasil.com/>. Acesso em: 20 set. 2024.

PLIEGO-PLIEGO, E; VASILIEVA, O; VELÁZQUEZ-CASTRO, J; COLLAR, A. F. Control strategies for a population dynamics model of *Aedes aegypti* with seasonal variability and their effects on dengue incidence. **Applied Mathematical Modelling**, [S. l.], v. 81, p. 296-319, 2020.

REFLORA. Arecaceae Flora e Funga do Brasil. **Programa Reflora**, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB53>. Acesso em: 02 out. 2024.

REIFENRATH, W. G. New repellent combination against flies and mosquitoes. Fort Detrick: **US Army Medical Research and Materiel Command**, Final Report, 2006.

REIFENRATH WG. **Repelente natural de insetos e artrópodes**. Titular: EUA. n. 6.306.415. Concessão 23 out. 2001. (Patente).

REINHOLD, J; LAZZARI, C; LAHONDÈRE, C. Effects of the environmental temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes: A review. **Insects**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 158, 2018.

RIQUEZAS DA TERRA. **Serum Murumuru, Cupuaçu, Coco e Pracaxi**. Loja de Cosméticos Mosaico Vegano. 2024. Disponível em: <https://www.mosaicovegano.com.br/serum-murumuru-cupuacu-coco-e-pracaxi>. Acesso em: 02 out. 2024.

ROCHA, S. M. B. M. Benefícios funcionais do açaí na prevenção de doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

ROCHA, C. F; DE MEDEIROS SOUZA LIMA, Y; CARVALHO, H. O; PINTO, R. C; FERREIRA, I. M; CASTRO, A. N; LIMA, C. S; CARVALHO, J. C. T. Action of the hydroethanolic extract of the flowers of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen on the reproductive performance of Wistar females rats: A popular female aphrodisiac from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 214, p. 301-308, 2018.

SANTOS, B. W. C; FERREIRA, F. M; SOUZA, V. F; CLEMENT, C. R; ROCHA R. B. Discriminant analysis of physical and chemical fruit traits of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) from the upper Madeira River, Rondônia, Brazil. **Científica**, Dracena, v. 45, n. 2, p. 154-161, 2017.

SARQUIS, S. F. R; MARINHO, V. H. S; NEVES, F. B; SARQUIS, I. R; ARAÚJO, I. F; DAMASCENO, L. F; FERREIRA, R. M. A; SOUTO, R. N. P; CARVALHO, C. T; FERREIRA, I. M. Carapa guianensis Aubl. (Meliaceae) oil associated with silk fibroin, as alternative to traditional surfactants, and active against larvae of the vector *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 157, p. 112931, 2020.

SILVA, J. A; OLIVEIRA, M. S. Potencial das palmeiras nativas da Amazônia Brasileira para a bioeconomia: análise em rede da produção científica e tecnológica. **Ciência Florestal**, [S. l.], v. 31, n. 2, p. 555-567, 2021.

SOOK, C. C; KAR, L. N. Chapter 6 - Refining of edible oils. In: GALANAKIS CM. *Lipids and Edible Oils: Properties, Processing and Applications*. **Elsevier**, p. 213-241, 2020.

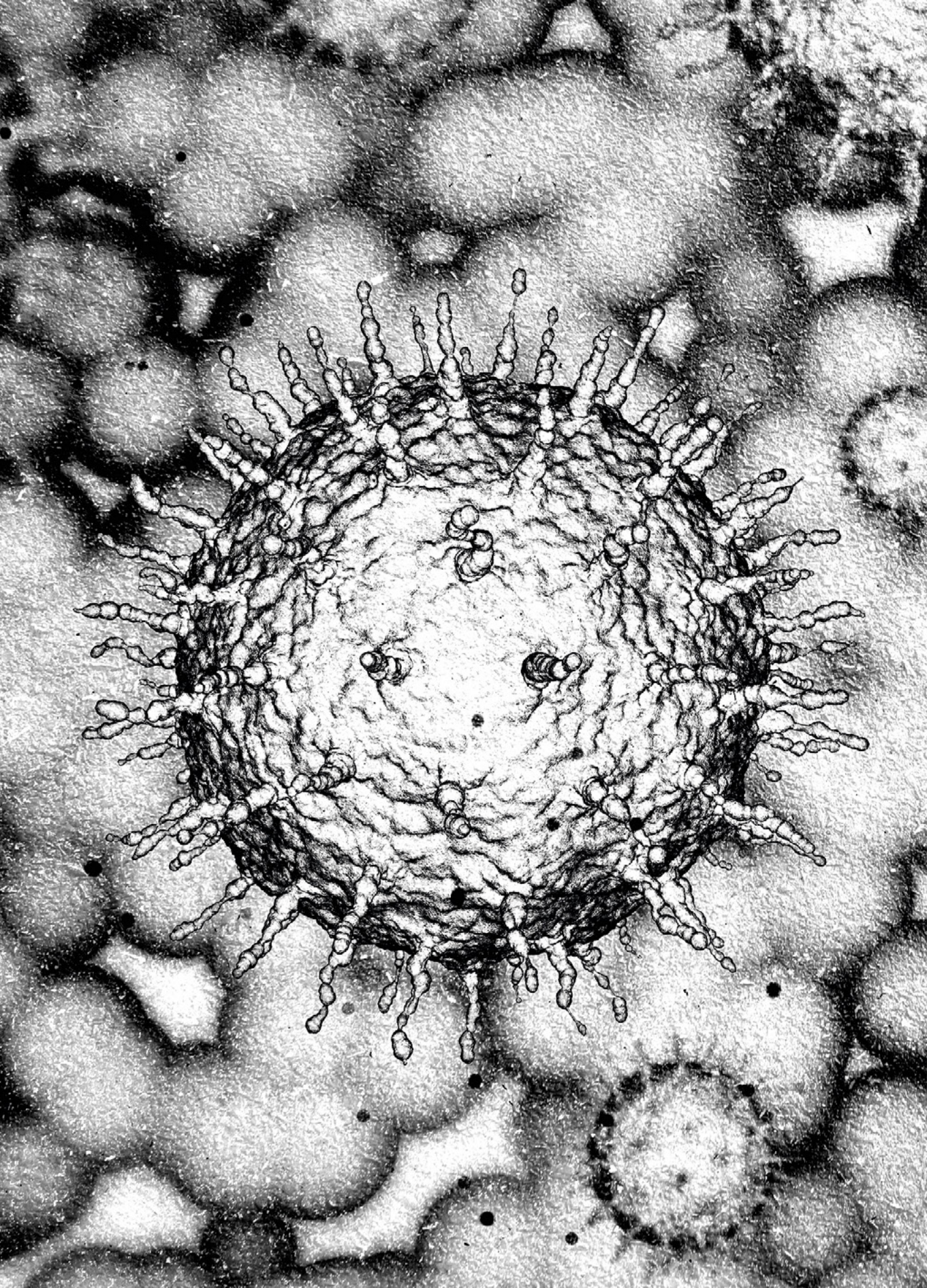
STEINWASCHER, K. Competition among *Aedes aegypti* larvae. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, p. 202455, 2018.

UNIVASF – UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DE SÃO FRANCISCO. **Macaúba**. 2021. Disponível em: https://www.nema.univasf.edu.br/site/index.php?page=newspaper&record_id=77. Acesso em: 02 out. 2024.

VEGA-RÚA, A; ZOUACHE, K; GIROD, R; FAILLOUX, A. B; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. **Journal of Virology**, [S. l.], v. 88, n. 10, p. 6294-6306, 2014.

VILELA, E. F; CALLEGARO, G. M; FERNANDES, G. W. **Biomass e agricultura**: oportunidades e desafios. Rio de Janeiro: Vertente Edições, 2019. 304 p. Disponível em: <http://www.abc.org.br/wp-content/uploads/2019/11/Livro-Biomass-eAgricultura-Site.pdf>. Acesso em: 02 out. 2024.

YAMAGUCHI, K. K. L; PEREIRA, L. F. R; LAMAS, G. R; LIMA, E. S; DA SILVA, E. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 179, p. 137-151, 2015.





Voltar ao Sumário

CAPÍTULO 6

O RELÓGIO CIRCADIANO DE *Aedes* *Aegypti*

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Jéssica Rodrigues Assunção Bezerra

Lucas de Oliveira de Alcantara

Rafaela Vieira Bruno

Ritmos biológicos

Desde que a vida apareceu na Terra, os organismos vivem em ambientes estruturados temporalmente. Os ritmos gerados pelos movimentos de rotação da Terra têm fortes efeitos sobre a vida dos organismos em uma gama de habitats, tão diversos como continentes, ilhas e oceanos. Apenas as formas de vida que vivem nas profundezas dos solos e oceanos podem escapar dos ritmos ambientais, como o ciclo diário de luz e escuridão, fases da lua, marés e estações do ano, que são impostos pelo movimento da Terra em torno do Sol e pela rotação do planeta em torno de seu eixo inclinado (Bauzer, 2006).

Precisão e regularidade são características comuns aos ritmos gerados astronomicamente. Os organismos não podem desenvolver adaptações a eventos raros e imprevisíveis, mas podem facilmente se adaptar a ciclos previsíveis e frequentes no ambiente. Condições externas repetitivas são uma rica fonte de informação que criam oportunidades a serem exploradas. É extremamente vantajoso para os organismos serem capazes de prever mudanças antes que elas ocorram. Um organismo preparado fisiologicamente antes que ocorram as mudanças externas (ou seja, nascer do sol, cair da temperatura, disponibilidade de alimentos, ocorrência de predadores etc.) tem uma chance maior de deixar progênie, enquanto os outros podem ser extintos. Portanto, não é surpreendente observar que os eucariotos superiores (e alguns procariotos) podem antecipar eventos cíclicos previsíveis, uma adaptação extraordinária aos desafios impostos pelo ambiente. Os ritmos biológicos evoluíram para corresponder a uma gama de periodicidades. Aqueles que correspondem ao período de 24 horas da rotação da Terra em torno de seu eixo são chamados de ritmos circadianos (em latim *circa* = cerca, *diem* = dia). As oscilações endógenas que evoluíram para corresponder a uma periodicidade inferior a 24 horas, como as de ciclos de maré (~12,4 horas), são denotadas ritmos ultradianos. Finalmente, fenômenos biológicos que oscilam num período superior a 24 horas, como o ciclo lunar (~ 29,4 dias) ou o ciclo anual (~ um ano), são definidos como ritmos infradianos (Bauzer, 2006).

Relógios circadianos

A vantagem competitiva de possuir um sistema antecipatório endógeno promoveu a evolução dos relógios biológicos (Pittendrigh 1965; 1967; 1993), que são dispositivos de temporização herdados que controlam os ritmos de muitos processos fisiológicos e comportamentais. Uma das características mais marcantes dos relógios biológicos são as oscilações autossustentáveis. Os relógios são encontrados em uma variedade de tecidos, conduzindo ritmos que persistem na ausência de sinais ambientais, gerando períodos naturais de livre curso.

No caso dos relógios circadianos, esse período é próximo, mas geralmente diferente, daquele do dia solar. Os relógios biológicos controlam uma ampla variedade de comportamentos e atividades fisiológicas em organismos vivos. Em insetos, ritmos diários de atividade locomotora, alimentação, acasalamento, resposta de olfato, emergência de pupas e controle do desenvolvimento são processos sob controle do relógio, entre vários outros (Saunders, 2002; 2010; 2013). O relógio biológico também controla os ritmos envolvidos na transmissão de patógenos causadores de doenças por insetos vetores, que afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Entender em detalhes o comportamento de fêmeas de mosquitos vetores é crucial para a epidemiologia dos patógenos por eles transmitidos (Clements, 1999).

É sabido por um longo tempo que fêmeas em diferentes estados fisiológicos mostram diferentes padrões de atividade circadiana (Jones; Gubbins, 1977; 1978; Jones, 1981; Lima-Camara *et al.*, 2014). Sabemos, por exemplo, que fêmeas de *Aedes aegypti* infectadas com vírus da dengue mostram um aumento na sua atividade locomotora circadiana (Lima-Camara *et al.*, 2011) e na sua avidez por sangue (Maciel-de-Freitas *et al.*, 2013). Já fêmeas infectadas com os vírus Zika e Chikungunya mostraram diminuição da atividade locomotora/voos circadiana (Padilha *et al.*, 2018; Padilha *et al.*, 2020).

Ritmos circadianos em *Aedes aegypti*

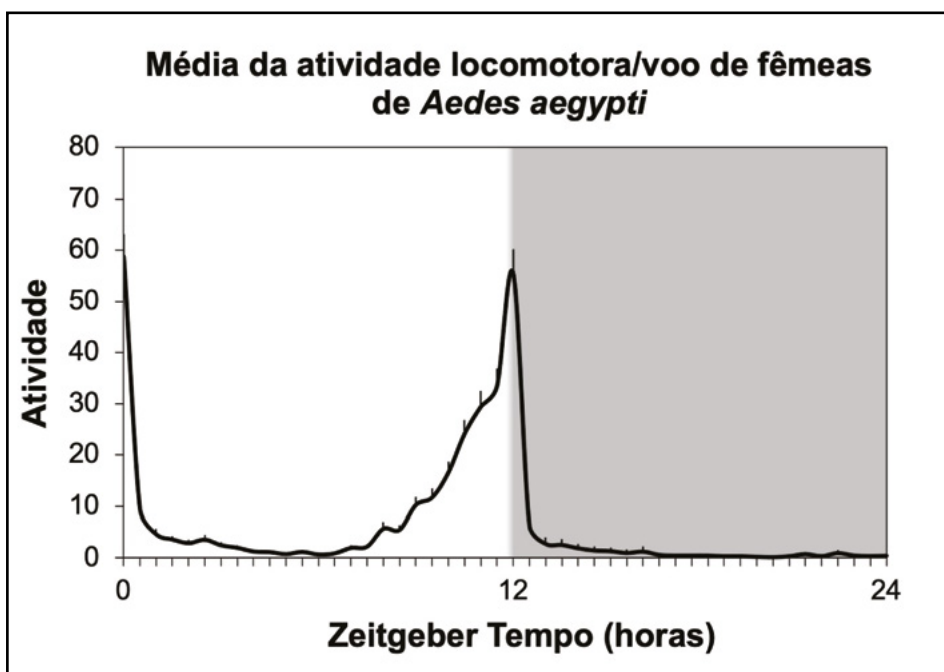
Assim como outros organismos, os insetos usualmente restringem sua atividade a certos horários do ciclo diário. Essa restrição de horário, tanto em ambientes naturais quanto em ciclos artificiais de luz e temperatura em laboratório, define os insetos como diurnos, crepusculares ou noturnos (Saunders, 2002). Entre os aspectos de atividade exibidos pelo vetor *Ae. aegypti*, aqueles relacionados à atividade locomotora/voo, à atividade de pouso em hospedeiro e à ovipostura foram os mais abordados pela literatura clássica e recente da cronobiologia.

Há mais de 40 anos, os ritmos de atividade de várias espécies de mosquito eram gravados por aparelhos automáticos pelos quais o som do voo era amplificado (Jones 1964; Nayar; Sauerman, 1971). Em 1969, Taylor e Jones usaram essa metodologia para caracterizar os padrões de atividade de voo de *Ae. aegypti*. A abordagem caracterizou o *Ae. aegypti* como um inseto diurno, com um pico de atividade ocorrendo cerca de 1 a 2 horas antes de as luzes se apagarem e pouca ou nenhuma atividade na porção escura do ciclo (Taylor; Jones, 1969). Além do pico principal, foi observado um pequeno pico de atividade quando as luzes se acendiam, evidenciando a bimodalidade da atividade de voo. O ritmo persistiu em escuridão constante (EE), com baixo nível de atividade e um período (t) de cerca de 22,5 horas (Taylor; Jones, 1969). Quando adultos foram transferidos de um regime de 4 horas de claridade e 20 horas de escuridão (CE 4:20) para EE, tanto o pico principal quanto o pico do acender das luzes persistiram nos tempos esperados, indicando que ambos seriam endogenamente controlados. Como os picos pareceram ser ajustados independentemente pelos sinais de acender e apagar as luzes, os autores sugeriram que eles representariam dois osciladores independentes, o do alvorecer e o do anoitecer (Taylor; Jones, 1969). No entanto, trabalhos mais recentes (Gentile *et al.*, 2009; Rivas *et al.*, 2018) indicaram que o pico matinal é, na verdade, um mascaramento e que só o pico vespertino é regulado pelo relógio.

Ainda usando o sistema de gravação do som de voo amplificado, a atividade circadiana de fêmeas de *Ae. aegypti* inseminadas foi comparada com a atividade de fêmeas não inseminadas (Jones, 1981). Nesse trabalho, o autor observou que fêmeas virgens tinham um padrão bimodal de atividade, com um pico pequeno aparecendo após as luzes serem acesas e um pico principal ocorrendo no final da fotofase. Já as fêmeas inseminadas mostraram, no geral, uma atividade menor. Inicialmente, as fêmeas inseminadas mostraram um pico de atividade pequeno, perto do momento de as luzes se apagarem. No entanto, a atividade locomotora aumentou nos dias finais, tornando-se similar à atividade observada em virgens.

Há cerca de 30 anos, a atividade locomotora de insetos passou a ser analisada a partir do confinamento dos indivíduos em pequenos tubos de vidro cilíndrico pelos quais passa um feixe de luz infravermelha que detecta o movimento cada vez que o inseto o cruza. Os padrões de atividade locomotora de *Ae. aegypti*, definidos a partir do uso desse sistema em vários trabalhos já publicados (Gentile *et al.*, 2009; Lima-Camara *et al.*, 2014; Araripe *et al.*, 2018; Rivas *et al.*, 2018, também indicaram o organismo como diurno, com um padrão bimodal de atividade, como mostrado na **Figura 1**.

Figura 1- Padrão bimodal de atividade em fêmeas de *Aedes aegypti*. A parte branca do gráfico representa horas com luzes acesas e a parte cinza representa horas com luzes apagadas.



Fonte: Figura adaptada de Araripe *et al.*, 2018.

Nota: O termo *Zeitgeber time* significa estímulo externo medido em horas que sincronize o ritmo circadiano dos organismos vivos em um período de 24 horas.

Gentile e colaboradores (2009) compararam os perfis de atividade locomotora de *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Fêmeas foram monitoradas por dois dias em regime de claro e escuro (CE), seguidos de cinco dias sob EE e mais três dias em CE, em temperatura constante (25°C). Os resultados mostraram *Ae. aegypti* sendo mais ativo na fotofase, enquanto *Cx. quinquefasciatus* mostrou atividade mais restringida à escotofase. *Ae. aegypti* mostrou um padrão bimodal de atividade, com um pico de atividade menor no início da fotofase e um pico maior no final da fotofase. Em escuridão constante, o período circadiano (t) foi de aproximadamente 22 horas.

Lima-Camara e colaboradores (2014) estudaram os efeitos da inseminação e alimentação sanguínea na atividade locomotora de

fêmeas de *Ae. aegypti* e *Aedes albopictus* em condições de laboratório. O padrão de atividade locomotora foi avaliado em quatro grupos experimentais: virgens não alimentadas de sangue (controle), fêmeas inseminadas não alimentadas de sangue, virgens alimentadas com sangue e fêmeas inseminadas alimentadas com sangue. As fêmeas de *Ae. aegypti* do grupo controle mostraram um padrão de atividade diurno e bimodal, com picos ao acender das luzes e ao apagar das luzes. Os resultados também indicaram que inseminação e alimentação sanguínea diminuem a atividade locomotora de fêmeas de *Ae. aegypti*.

Uma das capacidades do relógio circadiano endógeno é sua sincronização com o meio ambiente. Ciclos de luz e temperatura são os mais importantes sincronizadores (Saunders, 2002). Para elucidar os mecanismos de sincronização do relógio biológico de culicídeos, Rivas e colaboradores (2018) avaliaram a atividade locomotora de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* sob vários regimes artificiais de ciclos de claro e escuro e de temperatura. Os mosquitos foram expostos a ciclos de temperatura com ou sem ciclos de claro e escuro, a ciclos de temperatura e de claro e escuro conflitantes (dias frios × noites quentes) e, finalmente, à claridade constante com ciclos de temperatura. Foi observado que *Ae. aegypti* é mais sensível à temperatura, podendo exibir atividade locomotora na fase escura, mas em temperaturas mais altas, enquanto *Cx. quinquefasciatus* é mais responsivo aos ciclos de claro e escuro, sendo estritamente noturno.

Como somente as fêmeas de mosquitos vetores picam os hospedeiros para obtenção de sangue para o amadurecimento dos ovos, muitos estudos sobre comportamento e fisiologia, incluindo aqueles sobre o relógio circadiano, são feitos com as fêmeas. Entretanto, a expansão das populações de mosquitos depende do sucesso reprodutivo, que requer a participação dos machos. Com isso, o entendimento do comportamento reprodutivo dos machos e de sua fisiologia é de grande importância para qualquer programa de controle vetorial. Comportamentos como reprodução, forrageamento e alimentação estão bem associados com atividade locomotora, um fenótipo cuja caracterização nos machos é relevante para práticas de controle. Araújo e colaboradores analisaram a atividade locomotora de machos

solitários e de machos expostos a fêmeas a uma distância perceptível (Araripe *et al.*, 2018). Foi observado que o padrão de atividade locomotora de machos consiste num pico de atividade matinal (M1), como resposta ao acender das luzes (*startle response*), e um pico vespertino duplo (E1 e E2), sendo o E2 mais sutil e mais próximo do horário de apagar das luzes. Os autores também observaram que os machos expostos às fêmeas apresentaram alterações em seus padrões de atividade locomotora, quando comparados com machos solitários. Foi visto que no crepúsculo, nos machos expostos a fêmeas, o segundo pico vespertino (E2) de atividade locomotora foi significativamente maior que o E2 dos machos solitários. De forma interessante, o E2 dos machos sobreposição com o pico único das fêmeas, sugerindo que os machos encaixam seus picos de atividade com a fase em que as fêmeas estão mais ativas.

O comportamento circadiano de *Ae. aegypti* no campo também indicou a espécie como sendo diurna. Na Tanzânia, Trpis *et al.* (1973) observaram a periodicidade na atividade de pouso desse inseto vetor no homem. Foi observado um padrão bimodal de atividade de pouso, com picos ao sol nascente e ao sol poente, ocasionalmente podendo ocorrer até uma hora e meia mais tarde na manhã ou 3 horas mais cedo na tarde. Outro estudo na mesma área mostrou que a periodicidade foi igual para fêmeas inseminadas e não inseminadas. A atividade de pouso foi caracterizada como diurna e bimodal, com picos de atividade entre 6 e 7 horas (após o sol nascente) e entre 17 e 18 horas (antes do sol poente) (Corbet; Smith, 1974).

O comportamento de ovipostura também tem importância epidemiológica, considerando os horários que as fêmeas preferem colocar seus ovos. No trabalho de Haddow e Gillett (1957), os autores observaram que *Ae. aegypti* tem um ciclo regular de ovipostura, com um pico principal de atividade na tarde. Isso ocorreu em condições de temperatura e umidade constantes e um regime de 12 horas de claro com 12 horas de escuro (CE 12:12). Posteriormente, Gillett, Corbet e Haddow (1959) analisaram o padrão de ovipostura em ciclos de claro e escuro variáveis, tais como CE 12:12, CE 16:8 e CE 8:16. Foi observado que as fêmeas colocam mais ovos durante as últimas horas da fotofa-

se, independentemente de sua duração. Essa observação indicou que o ciclo de ovipostura é regulado por mudanças nos ciclos de claro e escuro.

Os genes do relógio circadiano: da caracterização em *Drosophila* aos padrões de expressão em *Aedes aegypti*

Devido à importância de cada espécie, insetos vetores tiveram seus ritmos de atividade descritos há muitas décadas, mas a estrutura molecular dos componentes do relógio circadiano nesse grupo de organismos começou a ser desvendada nas últimas duas décadas. O caminho para a descoberta dos mecanismos moleculares no relógio de insetos vetores foi pavimentado por uma miríade de estudos no organismo modelo *Drosophila melanogaster*. Foi a partir da caracterização molecular do relógio circadiano de *Drosophila* que o padrão de expressão de seus ortólogos em insetos vetores foi desvendado.

O primeiro componente genético do relógio circadiano de *Drosophila* a ser caracterizado foi o locus *period* (*per*), identificado por análise de mutagenese química do cromossomo X da mosca (Konopka; Benzer, 1971). O fenótipo inicial usado para a triagem foi a emergência de pupas de populações dessas moscas. Além disso, *per* também foi caracterizado como um regulador fundamental do ritmo diário da atividade locomotora (Konopka; Benzer, 1971). A identificação bem-sucedida de *per* pavimentou caminhos para as subseqüentes triagens bioquímicas e genéticas para identificar componentes adicionais do relógio circadiano. Mutantes para o locus autossômico *timeless* (*tim*) mostraram ritmos moleculares semelhantes aos mutantes *per*, exibindo características indicativas de um verdadeiro componente de relógio (Sehgal *et al.*, 1994). A clonagem posicional foi usada para isolar *tim* (Sehgal *et al.*, 1995), que, após clonado (Myers *et al.*, 1995) teve seu produto identificado como parceiro de interação de PERIOD (PER)

(Gekakis *et al.*, 1995). Sob exposição a ciclos de 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão (CE 12:12), os genes *per* e *tim* são expressos ritmicamente e seus RNAs mensageiros (RNAm) atingem níveis máximos no início da noite.

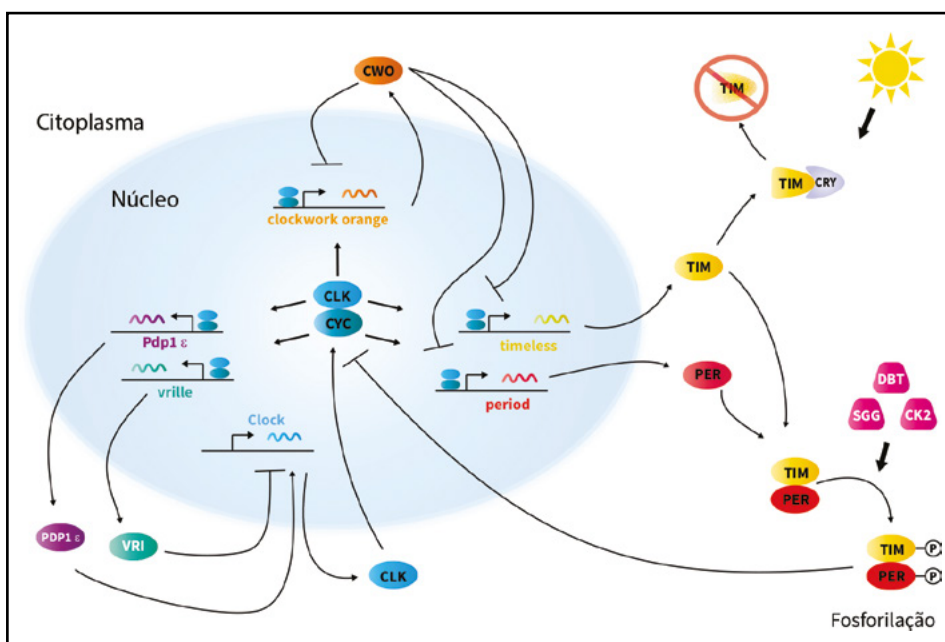
As proteínas PER e TIM também oscilam, mostrando um pico de expressão com um atraso de 4 a 6 horas em relação ao pico do RNAm, no final da noite. Durante o final do dia/início da noite, a concentração de PER e TIM no citoplasma é alta o suficiente para favorecer a formação de um complexo PER-TIM. A formação desse dímero é retardada ou acelerada pelo homólogo da CASEÍNA QUINASE 1 e (CK1e), por DOUBLETIME (DBT) (Kloss *et al.*, 1998; Price *et al.*, 1998) e PROTEÍNA FOSFATASE 2A (PP2A) (Sathyanarayanan *et al.*, 2004), que encurtam ou prolongam o período circadiano por fosforilação diferencial de PER. A degradação prematura de PER no citoplasma requer o produto da ubiquitina ligase SUPERNUMERY LIMBS (SLIMB) (Grima *et al.*, 2002; Ko; Jiang; Edery, 2002) e cessa apenas com o acúmulo de TIM, ele próprio fosforilado pelo produto do homólogo da GLUCOSE SINTASE QUINASE 3 (GSK3), SHAGGY (SGG) (Martinek *et al.*, 2001). A fosforilação de TIM por SGG promove a localização nuclear de heterodímeros PER-TIM, que migram para o núcleo no meio da noite como resultado de sua estabilização e cooperação mútuas (Ashmore *et al.*, 2003).

As proteínas PER e TIM carecem de sequências convencionais de ligação ao DNA e, portanto, no núcleo, elas regulam sua própria transcrição bloqueando a ação de CLOCK (CLK) (King *et al.*, 1997; Darlington *et al.*, 1998) e CYCLE (CYC) (Rutila *et al.*, 1998), dois fatores de transcrição básicos-hélice-alça-hélice (bHLH)/PAS. Na forma de heterodímero com CYC, CLK se liga a elementos reguladores, chamados E-boxes, que são conhecidos por serem locais de ligação para fatores de transcrição bHLH e estão presentes na região promotora de vários genes expressos ritmicamente dentro e a jusante do relógio circadiano (Hao; Allen; Hardin, 1997; Darlington *et al.*, 1998; Lee; Bae; Edery, 1999). Uma vez no núcleo, PER é eventualmente degradado pela fosforilação do DBT, um processo que reativa a transcrição na alça de retroalimentação *per/tim*, no qual a proteína CLK não reprimida

forma um heterodímero com a proteína CYC (via PAS), ligando-se aos E-boxes CACGTG nas regiões promotoras *per* e *tim* (Lee; Bae; Edery, 1999). PER e TIM são necessários para a transcrição rítmica de *Clk* (Bae et al., 1998) e, não surpreendentemente, a alça *per/tim* é acoplada a uma segunda alça via CLK.

Sob ciclos de 12 horas de claro seguidos de 12 horas de escuro (CE 12:12), CLK/CYC se liga a E-boxes conduzindo a expressão de altos níveis de RNAm de *vri* (*vri*) e *Par domain protein 1* (*Pdp 1*) durante o dia e no início da noite (Blau; Young, 1999; Cyran et al., 2003; Glossop et al., 2003). PDP1 foi sugerido como o ativador direto da transcrição de *Clk*, enquanto VRI seria o repressor (Cyran et al., 2003). Nesse modelo, a proteína VRI acumula-se em fase com seu RNAm e liga-se aos elementos reguladores VRI/PDP1 box (V/P box) na região promotora de *Clk*, inibindo assim sua transcrição (Cyran et al., 2003; Glossop et al., 2003). A proteína PDP1 acumula-se em níveis elevados durante o meio ao final da noite, reativando a transcrição de *Clk* por meio da ligação antagônica ao V/P box (Cyran et al., 2003). A superexpressão de CLK-CYC, que aumenta suas atividades nos E-boxes de *per* e *tim*, e a superexpressão de *per* sob seu próprio promotor reduzem o período circadiano. Já uma terceira alça regulatória está relacionada à redução de níveis de *per* ou à interrupção de CLOCKWORK ORANGE (CWO), o qual tem papel dual como inibidor competitivo de CLK-CYC e como a supressor dos genes-alvo de CLK, aumentando o período circadiano (Kadener et al., 2007; Lim et al., 2007; Richier et al., 2008). A **Figura 2** mostra um esquema resumindo os mecanismos moleculares dos osciladores do relógio circadiano de *Drosophila*.

Figura 2 - Os osciladores moleculares do relógio circadiano de *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Figura adaptada de Fonseca et al., 2024.

O input do relógio é tradicionalmente percebido como a rota pela qual os sinais de entrada do ambiente alcançam o relógio, ajustando o período e a fase para corresponder às condições externas. Os ciclos ambientais diários de luz, temperatura, alimentação e interações sociais são todos capazes de ativar os osciladores circadianos (Hardin, 2005). A luz é a principal entrada para o relógio central e *D. melanogaster* possui múltiplas vias fotorreceptivas (Helfrich-Förster et al., 2001). A análise genética revelou a contribuição de fotorreceptores externos, como os olhos compostos e ocelos, e de fotorreceptores não canônicos, como o *eyelet* de Hofbauer-Buchner e células contendo a proteína sensível à luz azul CRYPTOCHROME (CRY) e outros fotopigmentos desconhecidos (Helfrich-Förster et al., 2001; Helfrich-Förster, 2003). O gene *cryptochrome* (*cry*) é expresso na cabeça e no corpo (Egan et al., 1999; Ishikawa et al., 1999; Okano et al., 1999; Selby; Sancar, 1999). CRY é uma proteína de 542 aminoácidos (Emery et al., 1998) que apresenta

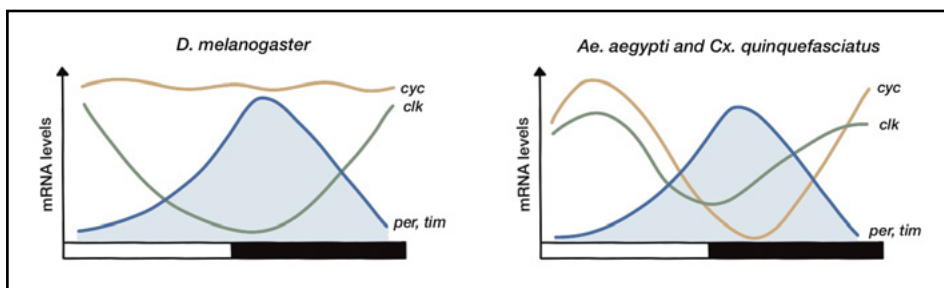
homologia com fotolases, enzimas que reparam diretamente lesões no DNA causadas pela luz ultravioleta em diversos organismos (Carell *et al.*, 2001). Uma vez ativada pela luz, a proteína CRY interage com TIM, desencadeando a rápida degradação de ambas. A degradação de TIM (que afeta negativamente a estabilidade de PER) realimenta o núcleo do relógio e é interpretada como um estímulo de reinicialização (Stanewsky *et al.*, 1998; Ceriani *et al.*, 1999; Ivanchenko; Stanewsky; Giebultowicz, 2001; Lin *et al.*, 2001). Uma mutação de sentido trocado (*cry^b*) dentro da região de ligação à flavina de *cry* de *Drosophila* interfere com o arrastamento de luz da atividade locomotora. Embora sejam comportamentalmente rítmicas, as moscas portadoras dessa mutação são incapazes de redefinir seus relógios em resposta a pulsos de luz curtos (Stanewsky *et al.*, 1998).

Enquanto nos anos 1990 a caracterização molecular do relógio circadiano de *Drosophila* estava a todo o vapor, foi somente nos anos 2000 que os ortólogos dos genes de *Drosophila* em *Ae. aegypti* começaram a ser estudados. Inicialmente, Gentile e colaboradores realizaram a clonagem e análise de expressão do gene de relógio *timeless* no mosquito *Ae. aegypti* (Gentile *et al.*, 2006). A comparação da sequência proteica prevista codificada por *timeless* em *Ae. aegypti* e *D. melanogaster* demonstrou alta similaridade em alguns domínios importantes, sugerindo conservação funcional. No entanto, um domínio na porção C-terminal (CLD) mostrou-se muito fracamente conservado em *Ae. aegypti*, trazendo dificuldades de alinhamento com essa porção em *D. melanogaster*. Entretanto, há um bloco de 14 aminoácidos idênticos no extremo do C-terminal, sugerindo uma região conservada importante. Diferenças foram detectadas na expressão de *tim* entre *Ae. aegypti* e *D. melanogaster* quando mantidas sob as mesmas condições (CE 12:12 e 25°C). Em *D. melanogaster*, a curva de expressão do RNAm de *tim* começa a subir ao mesmo tempo que o pico principal da atividade locomotora se inicia, por volta de ZT 8-9¹. Em *Drosophila*, a expressão do RNAm apresenta o pico logo depois de as luzes se apagarem, em

1 ZT significa *Zeitgeber Time* (*Zeitgeber*, do alemão “doador de tempo”) e indica quantas horas após o início da claridade um fenômeno ocorre em ciclos de claro e escuro. Em um ciclo de CE 12:12, a fotofase ocorre de ZT 0 a ZT 12 e a escotofase de ZT 12 a ZT 24.

ZT 13, quando a atividade locomotora reduziu dramaticamente, e permanece alta até ZT 17 antes de cair (So; Rosbash, 1997). Em *Ae. aegypti*, a expressão de *tim* tem seu pico durante a transição claro e escuro (entre ZT 9 e ZT 13), antes de cair rapidamente nas primeiras horas de escuridão, que é quando ocorre o pico em *D. melanogaster* (**Figura 3**). A menor expressão de *tim* em *Ae. aegypti* ocorre no meio da noite (ZT 17-19), quando em *D. melanogaster* ela está ainda relativamente alta (So; Rosbash, 1997).

Figura 3 - Comparação dos ritmos de expressão dos genes de relógio canônicos *period* (*per*), *timeless* (*tim*), *cycle* (*cyc*) e *Clock* (*Clk*) entre *D. melanogaster* e os insetos vetores *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*.



Fonte: Figura adaptada de Gentile et al., 2009 e de Meireles-Filho; Kyriacou, 2013.

As expressões circadianas de outros genes de relógio de *Ae. aegypti* foram caracterizadas alguns anos depois. Gentile e colaboradores compararam os perfis de expressão circadiana dos genes canônicos entre a espécie diurna *Ae. aegypti* e a espécie noturna *Cx. quinquefasciatus* (Gentile et al., 2009). Essas duas espécies possuem padrões de atividade locomotora muito diferentes e divergiram há mais de 22 milhões de anos. No entanto, elas mostraram padrões de expressão circadiana conservados para os principais genes de relógio, exceto para o gene similar ao de mamíferos *cryptochrome 2* (*cry 2*). Usando análise por PCR quantitativo em tempo real com oligonucleotídeos para os genes *per*, *tim*, *Clk*, *cyc*, *vri* e *Pdp 1*, os autores compararam a expressão desses genes em condições de CE e EE entre as duas espécies (**Figura 3**).

Os resultados mostraram padrões conservados entre as duas espécies, em ambas as condições, para os seis genes. Os autores especularam que modificações pós-traducionais das proteínas de relógio eram o que realmente importava para as explicar as diferenças comportamentais entre as duas espécies. Os resultados mostraram também contraste com perfis de *D. melanogaster*, como o gene *cyc*, que se mostrou rítmico em mosquitos, mas que tem padrão arrítmico nas moscas (Rutila *et al.*, 1998). Foram também obtidas sequências dos genes *cry 1* e *cry 2* para ambas as espécies e foi usado PCR quantitativo em tempo real para comparar suas expressões em CE e EE. Em ambas as espécies, o RNAm de *cry 1* não apresentou expressão cíclica. Entretanto, o RNAm de *cry 2* teve expressão cíclica e mostrou diferenças interessantes no padrão circadiano entre as duas espécies. Em *Cx. quinquefasciatus* o padrão de expressão lembrou o mesmo de *per*, com um único pico em ZT 17/ CT 17)².

Já para *Ae. aegypti*, observou-se um padrão bimodal, com muito mais níveis de expressão relativa durante o início da manhã, particularmente em ZT 1/ CT 1. Os genes *cry* possuem um padrão complexo de evolução molecular, envolvendo duplicação e perda de genes, que parece ter levado à formação de diferentes tipos de relógio de insetos (Yuan *et al.*, 2007). Os genes *cry* podem então ser bons candidatos para mediar diferenças comportamentais espécie-específica entre insetos vetores, o que é relevante para a transmissão de doenças. As diferenças encontradas na expressão de *cry 2* entre as duas espécies levaram os autores a especularem que, em *Ae. aegypti*, a expressão de *cry 2* é controlada por dois diferentes elementos responsivos circadianos, um responsável pelo pico da manhã e o outro pelo pico da noite, mais conservado. A proteína CRY2 de insetos, assim como seus ortólogos em mamíferos, inibe o heterodímero CLK/CYC (ou CLK/BMAL) por ligação ao domínio C-terminal do último (Shearman *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 2005; Yuan *et al.*, 2007). Esse domínio não existe em CYC de *Drosophila*, mas é presente em um número grande de outros insetos (Chang

2 CT significa *Circadian Time* e indica em que ponto ocorre o fenômeno em escuridão constante, se no dia subjetivo (de CT 0 a CT 12), ou na noite subjetiva (de CT 12 a CT 24).

et al., 2003; Meireles-Filho et al., 2006; Rubin et al., 2006, Sandrelli et al., 2008). Gentile e colaboradores (2009) examinaram as sequências de CYC de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* e viram que esse domínio é presente em ambas as espécies. Portanto, CRY2 também pode funcionar como um fator de transcrição negativo nesses mosquitos, regulando diretamente a atividade de CYC e, como consequência, a expressão de genes de output que CYC ativa. Nesse caso, os autores especularam que a diferença na expressão de RNAm de *cry 2* entre *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* pode ser associada com a expressão de genes ativados pelos fatores de transcrição CLK/CYC e que se expressam em outros processos fisiológicos do organismo (genes de output). É possível que esses genes de output estejam envolvidos nas diferenças em atividade comportamental entre esses dois mosquitos.

Muitos estudos conduzidos, tanto no campo quanto no laboratório, mostraram que a atividade circadiana dos mosquitos muda de acordo com o estado fisiológico (ex.: fêmeas virgens vs. inseminadas, ou fêmeas não alimentadas de sangue vs. alimentadas de sangue) e em formas diferentes, dependendo da ecologia da espécie (Clements, 1999). Gentile e colaboradores (2013) investigaram o efeito da alimentação sanguínea e da inseminação na expressão dos genes de relógio *per*, *tim*, *cyc* e *Clk*, na cabeça e no corpo de fêmeas de *Ae. aegypti*. Ainda, usaram a metodologia do RNA de interferência (RNAi) para diminuir a expressão de *tim* e investigar seus efeitos no padrão de atividade comportamental do mosquito em diferentes condições de claridade e escuridão.

Os autores mostraram que a alimentação sanguínea — e não a inseminação — é capaz de causar a redução na expressão dos genes canônicos de relógio *per*, *tim*, *cyc* e *Clk* nas cabeças e nos corpos das fêmeas desse mosquito. A refeição sanguínea foi responsável tanto por uma redução significativa na expressão de *per* e *cyc* quanto por uma redução, no limite da significância, de *tim* e *Clk* na cabeça. Esses dois últimos genes têm a menor amplitude na sua flutuação na cabeça de *Ae. aegypti* (Gentile et al., 2009), e isso pode explicar por que é mais difícil detectar uma redução estatisticamente significativa em seus níveis de expressão.

O comportamento de alimentação sanguínea está sob o controle do relógio circadiano (Das; Dimopoulos, 2008) e é possível que esse comportamento não seja apenas regulado, mas também retroalimenta o relógio circadiano. Os autores especularam que o estresse oxidativo, causado pela refeição sanguínea, pode interferir diretamente na regulação dos genes de relógio, levando a uma imparidade na habilidade de o CLK se ligar ao DNA e conduzindo a redução observada na expressão de *per* e *tim* depois da ingestão de sangue. O acasalamento não causou mudanças significantes na expressão dos genes de relógio em *Ae. aegypti*. Entretanto, não pode ser descartado que a inseminação por si só seja capaz de afetar a expressão dos genes de relógio num subgrupo de neurônios de relógio ou relógios periféricos. Isso pode não ter sido detectado pela estratégia adotada pelos autores, que usaram extratos de RNA de toda a cabeça e de todos os corpos decapitados.

Alternativamente, Gentile e colaboradores (2013) especularam que mudanças moleculares após a inseminação pode não envolver o relógio circadiano, mas sim outros genes de controle comportamental a jusante do relógio. Nesse trabalho, foram ainda feitas injeções *in vitro* de dsRNA (do inglês, *double strand RNA*) sintetizado de *tim* em fêmeas de *Ae. aegypti*, e uma redução significativa na expressão de *tim* foi detectada, tanto nas cabeças quanto nos corpos, no quarto dia após a injeção. A escolha de *tim* foi baseada na sensibilidade do relógio ao decréscimo na concentração da proteína TIM causada por degradação por luz, resultando numa reiniciação de todo o sistema (Hall, 2005; Hardin, 2011). Após a injeção de *dstim*, os padrões de comportamento de atividade/descanso foram monitorados sob duas diferentes condições, CE e EE.

Os gráficos de atividade locomotora durante sete dias em CE mostraram padrões similares entre mosquitos *dstim* e o controle, mas com diferentes níveis de atividade. A redução de *tim* diminuiu os níveis de poder rítmico. O poder de um ritmo é usualmente definido como a amplitude do topo do pico ao nível de confiança no periodograma *c2* (Liu; Loros; Dunlap, 1991) e é usado como parâmetro para medir a força de um ritmo num dado ciclo ambiental. Com isso, os

autores concluíram que a redução do poder rítmico nos mosquitos silenciados por *dstim* foi consequência da deficiência do arrastamento por luz nesse grupo.

Em CE, a atividade locomotora aumentada de mosquitos *dstim* sugere mudanças no efeito de mascaramento por luz, possivelmente devido ao fato de os mosquitos se tornarem menos sensíveis à luz. Juntos, esses resultados sugerem que, em mosquitos, *tim* tem um papel no mascaramento e no arrastamento, como observado em *Drosophila* (Hardin, 2011). Em EE, o número de indivíduos rítmicos diminuiu igualmente entre os dois grupos. Além disso, foi observada uma grande redução dos níveis de atividade no grupo *dstim* no segundo dia subjetivo, o que correspondeu ao quarto dia da injeção. Depois disso, houve um aumento gradual nos níveis de atividade, mas com uma mudança de fase³ atrasada comparada ao grupo controle. Houve também uma diferença significativa no período de livre curso entre os grupos, provavelmente como consequência da grande variedade entre indivíduos do grupo de mosquitos silenciados com *dstim*.

Além da luz, a temperatura tem um importante papel no relógio circadiano, ambas funcionando como ótimos sincronizadores (Saunders, 2002). Rivas e colaboradores forneceram dados que apoiam uma hierarquia diferente de luz e temperatura como *Zeitgebers* (doadores de tempo) em *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (Rivas et al., 2018). Os autores quantificaram a expressão de RNAm dos principais genes de relógio em várias combinações de ciclos de luz e temperatura. A maioria dos genes de relógio analisados exibiu ritmicidade significativa sob os vários regimes. Quando a expressão gênica foi comparada num mapa de calor, a organização do agrupamento dos genes variou por regime. Por exemplo, sob várias condições artificiais como EETC (escuridão constante e ciclos de temperatura de 30°C e 20°C), CECT (ciclos de claro e escuro e ciclos de temperatura de 20°C e 30°C) e CCTC (claridade constante e ciclos de temperatura de 30°C e 20°C), somente alguns grupos de genes ortólogos, como *per*, *vri* e *cyc*, man-

3 Mudança de fase em um ritmo circadiano significa que determinado ponto do ciclo moverá para mais cedo no dia (avanço de fase) ou mais tarde no dia (atraso de fase).

tiveram-se agrupados. Sob CETC (ciclo de claro e escuro e ciclos de temperatura de 30°C e 20°C), os ortólogos de *cry 2* foram agrupados, mas não os ortólogos de *tim*, já que a expressão de *tim* teve o pico mais cedo em *Ae. aegypti*. Essas variações na expressão de genes de relógio e atividade locomotora podem ter afetado o metabolismo, o gasto de energia, o custo de fitness e a eficiência de transmissão de patógenos das espécies de mosquito estudadas.

Os efeitos do ciclo de temperatura foram também estudados por Teles-de-Freitas e colaboradores (2020). Nesse trabalho, os autores identificaram genes candidatos cujas expressões seriam influenciadas por ciclos de temperatura e poderiam afetar a atividade locomotora de *Ae. aegypti*. Foi observado que *timeless* perdeu sua expressão rítmica em claro e escuro quando mosquitos foram expostos a ciclos de temperatura fora de fase. A expressão rítmica de *timeless* também foi interrompida com o silenciamento mediado por RNAi do gene no *circadian temperature entrainment* (*nocte*), um importante gene para a sincronização circadiana de *Drosophila* a ciclos de temperatura (Glaser; Stanewsky, 2005; Sehadova et al., 2009; Chen et al., 2018).

Esses resultados mostraram que *timeless* e *nocte* são importantes genes para a sincronização de ciclos de temperatura em *Ae. aegypti*. Os autores também simularam as flutuações graduais de temperatura em laboratório, aproximando o máximo possível às variações de temperatura diárias naturais no Brasil. Foi observado que, em condições seminaturais, a atividade e a expressão do relógio circadiano molecular de *Ae. aegypti* difeririam significativamente daquelas dos mosquitos sujeitos a temperatura constante ou a mudanças retangulares abruptas de temperatura. Os autores sugerem que, para um entendimento do comportamento circadiano de *Ae. aegypti* com possíveis implicações para estratégias de intervenção, os estudos em condições seminaturais precisam substituir os estudos de laboratório tradicionais.

O relógio circadiano de insetos é composto por um marca-passo central na cabeça e por relógios periféricos encontrados nos tecidos do restante do corpo. Embora os periféricos possam ser controlados pelo marca-passo da cabeça, muitos são autônomos em relação ao re-

lógio central. Em *Drosophila*, a sincronização a ciclos de temperatura começa nos tecidos periféricos, principalmente localizados no corpo (Sehadova *et al.*, 2009). Já a espécie *Ae. aegypti* mostrou ser mais sensível a ciclos de temperatura do que outros mosquitos (Rivas *et al.*, 2018). De posse desse conhecimento, Teles-de-Freitas e colaboradores (2021) se motivaram a entender como os genes de relógio *per*, *tim*, *cyc* e *cry 2* são expressos no corpo de *Ae. aegypti*. Os autores observaram que a expressão dos genes analisados no corpo foi similar em escuridão constante a 25°C e regime de claro e escuro gradual, também a 25°C. Nessas condições, somente *per* mostrou expressão cíclica com um perfil de fase diferente do que ocorre na cabeça. Já *tim*, *cyc* e *cry 2* foram arrítmicos. Os pesquisadores sugeriram que a expressão de *per* no corpo é regulada endogenamente pelo relógio circadiano, mesmo na ausência de fatores ambientais. Além disso, concluíram que adição de ciclos de claro e escuro graduais não foi suficiente para alterar a expressão dos genes analisados.

De acordo com os autores, o fato de os genes não terem mostrado mudanças de expressão em regimes de claro e escuro e escuridão constante a 25°C sugere que os ciclos de claro e escuro são um fraco *Zeitgeber* no corpo, pelo menos para os genes analisados. Nesse trabalho, também foi observado que ciclos de temperatura parecem ter maior influência do que ciclos de claro e escuro no corpo de *Ae. aegypti*. Isso porque, em escuridão constante e com um ciclo seminatural de temperatura, houve uma expressão cíclica de *tim* e um deslocamento no pico de expressão de *per*. Todos os genes analisados recuperaram suas expressões cíclicas sob regime de claro e escuro gradual e ciclos de temperatura seminaturais, sugerindo que deve haver uma sinergia entre os ciclos de temperatura e os ciclos de claro e escuro para o pleno funcionamento do relógio. Finalmente, a expressão diferencial de *cry 2* na cabeça e no corpo de *Ae. aegypti* sugeriu que, nesse último local, o mecanismo de regulação de *cry 2* deve ser diferente daquele proposto para a cabeça por Gentile e colaboradores (2009).

Recentemente, Bezerra e colaboradores descreveram o padrão de ciclagem de três dos principais genes de relógio (*per*, *cyc* e *cry 2*) em tecidos de machos de *Ae. aegypti*, com ou sem a presença de fê-

meas (Bezerra; Bruno; Araripe, 2022). Os autores associaram o perfil de expressão com o trabalho prévio de perfis de atividade locomotora nessas condições (Araripe *et al.*, 2018). Além disso, eles investigaram o papel das antenas dos machos em perceber as fêmeas coespecíficas e mediar a variação na expressão cíclica dos genes de relógio.

Os resultados mostraram que *per* teve um perfil de expressão conservado nas cabeças, nos abdomens e nas antenas dos machos de *Ae. aegypti* em todas as condições estudadas, independentemente da presença das fêmeas. Isso indicou que a expressão de RNA de *per* pode não estar sob a influência de interação social. Os resultados mostraram também que a expressão de *cyc* variou nos tecidos dos machos entre ZT 1 e ZT 5, de acordo com a condição estudada. Quando machos com antenas estavam na presença de fêmeas, o gene *cyc* deslocou seu pico de expressão para uma fase mais tardia. Isso não aconteceu em machos sem antena na presença de fêmeas. Os resultados mostraram que a expressão de *cyc* pode ser influenciada pela presença de fêmeas quando as antenas estão presentes, mediando a comunicação. Já o gene *cry 2* teve sua expressão modificada nos tecidos dos machos, dependendo da condição estudada. A expressão de *cry 2* mostrou um padrão bimodal em cabeças de machos solitários, com ou sem antena. No entanto, quando machos foram expostos a fêmeas, *cry 2* foi muito menos expresso em ZT 21, e o primeiro pico colapsou. Esse achado sugeriu que o primeiro pico de expressão de *cry 2* é influenciado pela interação social entre machos e fêmeas.

O aprofundamento das caracterizações do relógio circadiano de *Ae. aegypti* já está ocorrendo a partir de avanços em metodologias de edição gênica, como CRISPR/Cas9, que permite o silenciamento de genes-alvo em organismos de forma precisa e simples. Para explorar a conexão entre o relógio endógeno e os mais variados comportamentos do mosquito *Ae. aegypti*, Shetty e colaboradores usaram CRISPR/Cas9 para silenciar a expressão do gene *cyc* e desativar o relógio circadiano endógeno dessa espécie (Shetty *et al.*, 2022). A interrupção do relógio aboliu os padrões de atividade locomotora circadiana característicos de um relógio funcional e significativamente reduziu a resposta de *Ae. aegypti* a odores do hospedeiro humano, ao sucesso de

acasalamento, mas não afetou a alimentação sanguínea. Além disso, o relógio não funcional também causou atrasos no desenvolvimento larvar e redução do tempo de vida. Nos mosquitos sem expressão de *cyc*, houve uma redução na expressão de *per*, tanto em ciclos de claro e escuro quanto em escuridão constante. Já a expressão de *tim* foi similar entre os mosquitos nocauteados e os controles selvagens. A expressão cíclica de outros genes essenciais do relógio também foi interrompida em fêmeas de *Ae. aegypti* silenciadas para *cyc*. A expressão de *Clk* foi mais alta nos mosquitos silenciados do que no controle selvagem, tanto em escuridão constante quanto em ciclos de claro e escuro. Em contraste, a expressão de *cry 1*, que é sensível à luz e inibe a formação de heterodímeros PER/TIM, foi similar entre os mosquitos silenciados e o tipo selvagem em ambas as condições de escuridão constante e ciclos de claro e escuro.

Conclusões

Todos esses estudos com *Ae. aegypti* comentados neste capítulo, e muitos outros, mostram o papel fundamental do relógio circadiano endógeno na biologia do mosquito. Inovações metodológicas como CRISPR/Cas9 abrem as portas do futuro para a caracterização completa da função e do papel do relógio circadiano neste importante inseto vetor. Essa caracterização possibilitará a criação e novas metodologias de controle do inseto vetor e o aprimoramento das existentes, reduzindo assim as adversidades que as doenças virais transmitidas pelo *Ae. aegypti* causam na humanidade.

Referências

- ARARIPE, L. O.; BEZERRA, J. R. A.; RIVAS, G. B. D. S.; BRUNO, R. V. Locomotor activity in males of *Aedes aegypti* can shift in response to females' presence. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 254, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2635-9>.
- ASHMORE, L. J.; SATHYANARAYANAN, S.; SILVESTRE, D. W.; EMERSON, M. M.; SCHOTLAND, P.; SEHGAL, A. Novel insights into the regulation of the timeless protein. **The Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 23, n. 21, p. 7810-7819, 2003.
- BAE, K.; LEE, C.; SIDOTE, D.; CHUANG, K. Y.; EDERY, I. Circadian regulation of a *Drosophila* homolog of the mammalian Clock gene: PER and TIM function as positive regulators. **Molecular and Cellular Biology**, [S. l.], v. 18, n. 10, p. 6142-6151, 1998.
- BAUZER, L. G. S. **A putative role for TANGO in the circadian clock of *Drosophila melanogaster***. 2006. 276 f. Thesis (Doctor of Philosophy) — Department of Biology, University of Leicester, Leicester, UK, 2006. Disponível em: <https://hdl.handle.net/2381/29734>. Acesso em: 25 set. 2024.
- BEZERRA, J. R. A.; BRUNO, R. V.; ARARIPE, L. O. Males of *Aedes aegypti* show different clock gene expression profiles in the presence of conspecific females. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 374, 2022.
- BLAU, J.; YOUNG, M. W. Cycling vrille expression is required for a functional *Drosophila* clock. **Cell**, [S. l.], v. 99, n. 6, p. 661-671, 1999.
- CARELL, T.; BURGDORF, L. T.; KUNDU, L. M.; CICHON, M. The mechanism of action of DNA photolyases. **Current Opinion in Chemical Biology**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 15-24, 2001.
- CERIANI, M. F.; DARLINGTON, T. K.; STAKNIS, D.; MAS, P.; PETTI, A. A.; WEITZ, C. J.; KAY, S. A. Light-dependent sequestration of TIMELESS by CRYPTOCHROME. **Science**, [S. l.], v. 285, n. 5427, p. 553-556, 1999.

CHANG, D. C.; MCWATTERS, H. G.; WILLIAMS, J. A.; GOTTER, A. L.; LEVINE, J. D.; REPPERT, S. M. Constructing a feedback loop with circadian clock molecules from the silkworm, *Antheraea pernyi*. **The Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 278, n. 40, p. 38149-38155, 2003.

CHEN, C.; XU, M.; ANANTAPRAKORN, Y.; ROSING, M.; STANEWSKY, R. nocte Is required for integrating light and temperature inputs in circadian clock neurons of *Drosophila*. **Current Biology**, [S. l.], v. 28, n. 10, p. 1595-1605, 2018.

CLEMENTS, A. N. **The Biology of Mosquitoes: Sensory reception and behaviour**. London: Chapman & Hall, 1999.

CORBET, P. S.; SMITH, S. M. Diel periodicities of landing of nulliparous and parous *Aedes aegypti* (L.) at Dar es Salaam, Tanzania (Diptera, Culicidae). **Bulletin of Entomological Research**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 111-119, 1974.

CYRAN, S. A.; BUCHSBAUM, A. M.; REDDY, K. L.; LIN, M. C.; GLOSSOP, N. R.; HARDIN, P. E. YOUNG, M. W.; STORTI, R. V.; BLAU, J. V. *Period*, *Pdp1*, and *dClock* form a second feedback loop in the *Drosophila* circadian clock. **Cell**, [S. l.], v. 112, n. 3, p. 329-341, 2003.

DARLINGTON, T. K.; WAGER-SMITH, K.; CERIANI, M. F.; STAKNIS, D.; GEKAKIS, N.; STEEVES, T. D.; WEITZ, C. J.; TAKAHASHI, J. S.; KAY, S. A. Closing the circadian loop: CLOCK-induced transcription of its own inhibitors *period* and *timeless*. **Science**, [S. l.], v. 280, n. 5369, p. 1599-1603, 1998.

DAS, S.; DIMOPOULOS, G. Molecular analysis of photic inhibition of blood-feeding in *Anopheles gambiae*. **BMC Physiology**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 23, 2008.

EGAN, E. S.; FRANKLIN, T. M.; HILDERBRAND-CHAE, M. J.; MCNEIL, G. P.; ROBERTS, M. A.; SCHROEDER, A. J.; ZHANG, X.; JACKSON, F. R. An extraretinally expressed insect cryptochrome with similarity to the blue light photoreceptors of mammals and plants. **The Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 19, n. 10, p. 3665-3673, 1999.

EMERY, P.; SO, W. V.; KANEKO, M.; HALL, J. C.; ROSBASH, M. *Cry*, a *Drosophila* clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. **Cell**, [S. l.], v. 95, n. 5, p. 669-679, 1998.

FONSECA, A. B. A.; BEZERRA, J. R. A.; ARARIPE, L. O.; BRUNO, R. V. O relógio biológico endógeno e seus mecanismos moleculares em mosquitos vetores. In: FOGAÇA, A. C.; VAZ JUNIOR, I. S. (org.). **Tópicos Avançados em Entomologia Molecular**. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2024. p. 214-247.

GEKAKIS, N.; SAEZ, L.; DELAHAYE-BROWN, A. M.; MYERS, M. P.; SEHGAL, A.; YOUNG, M. W.; WEITZ, C. J. Isolation of timeless by PER protein interaction: Defective interaction between timeless protein and long-period mutant PERL. **Science**, [S. l.], v. 270, n. 5237, p. 811-815, 1995.

GENTILE, C.; MEIRELES-FILHO, A. C.; BRITTO, C.; LIMA, J. B.; VALLE, D.; PEIXOTO, A. A. Cloning and daily expression of the timeless gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 36, n. 11, p. 878-884, 2006.

GENTILE, C.; RIVAS, G. B.; MEIRELES-FILHO, A. C.; LIMA, J. B.; PEIXOTO, A. A. Circadian expression of clock genes in two mosquito disease vectors: cry2 is different. **Journal of Biological Rhythms**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 444-451, 2009.

GENTILE, C.; RIVAS, G. B. S.; LIMA, J. B. P.; BRUNO, R. V.; PEIXOTO, A. A. Circadian clock of *Aedes aegypti*: effects of blood-feeding, insemination and RNA interference. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108 (Suppl. I), n. 80-87, 2013.

GILLET, J. D.; CORBET, P. S.; HADDOW, A. J. Observations on the oviposition-cycle of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus), III. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 175-180, 1959.

GLASER, F. T.; STANEWSKY, R. Temperature synchronization of the *Drosophila* circadian clock. **Current Biology**, [S. l.], v. 15, n. 15, p. 1352-1363, 2005.

GLOSSOP, N. R. J.; HOUL, J. H.; ZHENG, H.; NG, F. S.; DUDEK, S. M.; HARDIN, P. E. VRILLE feeds back to control circadian transcription of Clock in the *Drosophila* circadian oscillator. **Neuron**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 249-261, 2003.

GRIMA, B.; LAMOUREUX, A.; CHÉLOT, E.; PAPIN, C.; LIMBOURG-BOUCHON, B.; ROUYER, F. The F-box protein Slimb controls the levels of clock proteins period and timeless. **Nature**, [S. l.], v. 420, n. 6912, p. 178-182, 2002.

HADDOW, A. J.; GILLET, J. D. Observations on the oviposition-cycle of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, [S. l.], v. 51, p. 159-169, 1957.

HALL, J. C. Systems approaches to biological rhythms in *Drosophila*. **Methods in Enzymology**, [S. l.], v. 393, p. 61-185, 2005.

HAO, H.; ALLEN, D. L.; HARDIN, P. E. A circadian enhancer mediates PER-dependent mRNA cycling in *Drosophila melanogaster*. **Molecular and Cellular Biology**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 3687-3693, 1997.

HARDIN, P. E. The circadian timekeeping system of *Drosophila*. **Current Biology**, [S. l.], v. 15, n. 17, p. 714-722, 2005.

HARDIN, P. E. Molecular genetic analysis of circadian timekeeping in *Drosophila*. **Advances in Genetics**, [S. l.], v. 74, p. 141-173, 2011.

HELFRICH-FÖRSTER, C.; WINTER, C.; HOFBAUER, A.; HALL, J. C.; STANEWSKY, R. The circadian clock of fruit flies is blind after elimination of all known photoreceptors. **Neuron**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 249-261, 2001.

HELFRICH-FÖRSTER, C. The neuroarchitecture of the circadian clock in the brain of *Drosophila melanogaster*. **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 62, n. 2, p. 94-102, 2003.

ISHIKAWA, T.; MATSUMOTO, A.; KATO, T. J. R.; TOGASHI, S.; RYO, H.; IKENAGA, M.; TODO, T.; UEDA, R.; TANIMURA, T. DCRY is a *Drosophila* photoreceptor protein implicated in light entrainment of circadian rhythm. **Genes to Cells**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 57-65, 1999.

IVANCHENKO, M.; STANEWSKY, R.; GIEBULTOWICZ, J. M. Circadian photoreception in *Drosophila*: Functions of cryptochrome in peripheral and central clocks. **Journal of Biological Rhythms**, [S. l.], v. 16, n. 3, p. 205-215, 2001.

JONES, M. D. R. The automatic recording of mosquito activity. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 10, p. 343-351, 1964.

JONES, M. D. R. The programming of circadian flight-activity in relation to mating and the gonotrophic cycle in the mosquito, *Aedes aegypti*. *Physiol* **Physiological Entomology**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 307-313, 1981.

JONES, M. D. R; GUBBINS, S. J. Modification of circadian flight activity in the mosquito *Anopheles gambiae* after insemination. **Nature**, [S. l.], v. 268, n. 5622, p. 731-732, 1977.

JONES, M. D. R; GUBBINS, S. J. Changes in the circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae* in relation to insemination, feeding and oviposition. **Physiological Entomology**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 213-220, 1978.

KADENER, S.; STOLERU, D.; MCDONALD, M.; NAWATHEAN, P.; ROSBASH, M. Clockwork Orange is a transcriptional repressor and a new *Drosophila* circadian pacemaker component. **Genes & Development**, [S. l.], v. 21, n. 13, p. 1675-1686, 2007.

KING, D. P.; ZHAO, Y.; SANGORAM, A. M.; WILSBACHER, L. D.; TANAKA, M.; ANTOCH, M. P.; STEEVES, T. D.; VITATERNA, M. H.; KORNHAUSER, J. M.; LOWREY, P. L.; TUREK, F. W.; TAKAHASHI, J. S. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. **Cell**, [S. l.], v. 89, n. 4, p. 641-653, 1997.

KLOSS, B.; PRICE, J. L.; SAEZ, L.; BLAU, J.; ROTHENFLUH, A.; WESLEY, C. S.; YOUNG, M. W. The *Drosophila* clock gene double-time encodes a protein closely related to human casein kinase Iepsilon. **Cell**, [S. l.], v. 94, n. 1, p. 97-107, 1998.

KO, H. W.; JIANG, J.; EDERY, I. Role for Slimb in the degradation of *Drosophila* Period protein phosphorylated by Doubletime. **Nature**, [S. l.], v. 420, n. 6916, p. 673-678, 2002.

KONOPKA, R. J.; BENZER, S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 68, n. 9, p. 2112-2116, 1971.

LEE, C.; BAE, K.; EDERY, I. PER and TIM inhibit the DNA binding activity of a *Drosophila* CLOCK-CYC/dBMAL1 heterodimer without disrupting formation of the heterodimer: a basis for circadian transcription. **Molecular and Cellular Biology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 5316-5325, 1999.

LIM, C.; CHUNG, B. Y.; PITMAN, J. L.; MCGILL, J. J.; PRADHAN, S.; LEE, J.; KEEGAN, K. P.; CHOE, J.; ALLADA, R. Clockwork orange encodes a transcriptional repressor important for circadian-clock amplitude in *Drosophila*. **Current Biology**, [S. l.], v. 17, n. 12, p. 1082-1089, 2007.

LIMA-CAMARA, T. N.; BRUNO, R. V.; LUZ, P. M.; CASTRO, M. G.; LOURENÇO-DE-O-LIVEIRA, R.; SORGINE, M. H.; PEIXOTO, A. A. Dengue infection increases the locomotor activity of *Aedes aegypti* females. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. e17690, 2011.

LIMA-CAMARA, T. N.; LIMA, J. B.; BRUNO, R. V.; PEIXOTO, A. A. Effects of insemination and blood-feeding on locomotor activity of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females under laboratory conditions. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 304, 2014.

LIN, F. J.; SONG, W.; MEYER-BERNSTEIN, E.; NAIDOO, N.; SEHGAL, A. Photic signaling by cryptochrome in the *Drosophila* circadian system. **Molecular and Cellular Biology**, [S. l.], v. 21, n. 21, p. 7287-7294, 2001.

LIU, X.; YU, Q. A.; HUANG, Z. S.; ZWIEBEL, L. J.; HALL, J. C.; ROSBASH, M. The strength and periodicity of *D. melanogaster* circadian rhythms are differentially affected by alterations in period gene expression. **Neuron**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 753-766, 1991.

MACIEL-DE-FREITAS, R.; SYLVESTRE, G.; GANDINI, M.; KOELLA, J. C. The influence of dengue virus serotype-2 infection on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) motivation and avidity to blood feed. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. e65252, 2013.

MARTINEK, S.; INONOG, S.; MANOUKIAN, A. S.; YOUNG, M. W. A role for the segment polarity gene shaggy/GSK-3 in the *Drosophila* circadian clock. **Cell**, [S. l.], v. 105, n. 6, p. 769-779, 2001.

MEIRELES-FILHO, A. C. A.; RIVAS, G. B. S.; GESTO, J. S. M.; MACHADO, R. C.; BRITTO, C.; SOUZA, N. A.; PEIXOTO, A. A. The biological clock of an hematophagous insect: locomotor activity rhythms, circadian expression, and downregulation after a blood meal. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 580, n. 1, p. 2-8, 2006.

MEIRELES-FILHO, A. C.; KYRIACOU, C. P. Circadian rhythms in insect disease vectors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, supl. 1, p. 48-58, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/qzt5snWGb8QxQkt7mN36MKs/>. Acesso em: 25 abr. 2024.

MYERS, M. P.; WAGER-SMITH, K.; WESLEY, C. S.; YOUNG, M. W.; SEHGAL, A. Positional cloning and sequence analysis of the *Drosophila* clock gene *timeless*. **Science**, [S. l.], v. 270, n. 5237, p. 805-808, 1995.

NAYAR, J. K.; SAUERMAN, D. M. Physiological effects of carbohydrates on survival, metabolism, and flight potential of female *Aedes taeniorhynchus*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 17, n. 11, p. 2221-2233, 1971.

OKANO, S.; KANNO, S.; TAKAO, M.; EKER, A. P.; ISONO, K.; TSUKAHARA, Y.; YASUI, A. A putative blue-light receptor from *Drosophila melanogaster*. **Photochemistry and Photobiology**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 108-113, 1999.

PADILHA, K. P.; RESCK, M. E. B.; CUNHA, O. A. T.; TELES-DE-FREITAS, R.; CAMPOS, S. S.; SORGINE, M. H. F.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FARNESI, L. C.; BRUNO, R. V. Zika infection decreases *Aedes aegypti* locomotor activity but does not influence egg production or viability. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 10, p. e180290, 2018.

PADILHA, K. P.; CUNHA, O. A. T. D.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FARNESI, L. C.; BRUNO, R. V. Chikungunya infection modulates the locomotor/flight activity of *Aedes aegypti*. **Sleep Science**, [S. l.], v. 13, Suppl 2, p. 76, 2020.

PITTENDRIGH, C. S. On the mechanism of entrainment of a circadian rhythm by light cycles. In: ASCHOFF J, editor. **Circadian clocks**. Amsterdam: North-Holland, 1965. p. 277-297.

PITTENDRIGH, C. S. Circadian systems. I. The driving oscillation and its assay in *Drosophila pseudoobscura*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 1762-1767, 1967.

PITTENDRIGH, C. S. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. **Annual Review of Physiology**, [S. l.], v. 55, p. 16-54, 1993.

PRICE, J. L.; BLAU, J.; ROTHENFLUH, A.; ABODEELY, M.; KLOSS, B.; YOUNG, M. W. Double-time is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. **Cell**, [S. l.], v. 94, n. 1, p. 83-95, 1998.

RICHIER, B.; MICHARD-VANHÉE, C.; LAMOUREUX, A.; PAPIN, C.; ROUYER, F. The clockwork orange *Drosophila* protein functions as both an activator and a repressor of clock gene expression. **Journal of Biological Rhythms**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 103-116, 2008.

RIVAS, G. B. S.; TELES-DE-FREITAS, R.; PAVAN, M. G.; LIMA, J. B. P.; PEIXOTO, A. A.; BRUNO, R. V. Effects of light and temperature on daily activity and clock gene expression in two mosquito disease vectors. **Journal of Biological Rhythms**, [S. l.], v. 33, n. 3, p. 272-288, 2018.

RUBIN, E. B.; SHEMESH, Y.; COHEN, M.; ELGAVISH, S.; ROBERTSON, H. M.; BLOCH, G. Molecular and phylogenetic analyses reveal mammalian-like clockwork in the honey bee (*Apis mellifera*) and shed new light on the molecular evolution of the circadian clock. **Genome Research**, [S. l.], v. 16, n. 11, p. 1352-1365, 2006.

RUTILA, J. E.; SURI, V.; LE, M.; SO, W. V.; ROSBASH, M.; HALL, J. C. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila* period and timeless. **Cell**, [S. l.], v. 93, n. 5, p. 805-814, 1998.

SANDRELLI, F.; COSTA, R.; KYRIACOU, C. P.; ROSATO, E. Comparative analysis of circadian clock genes in insects. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 447-463, 2008.

SATHYANARAYANAN, S.; ZHENG, X.; XIAO, R.; SEHGAL, A. Posttranslational regulation of *Drosophila* PERIOD protein by protein phosphatase 2A. **Cell**, [S. l.], v. 116, n. 4, p. 603-615, 2004.

SAUNDERS, D. **Insect clocks**. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2002.

SAUNDERS, D. S. Controversial aspects of photoperiodism in insects and mites. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 56, n. 11, p. 1491-1502, 2010.

SAUNDERS, D. S. Insect photoperiodism: measuring the night. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 1-10, 2013.

SEHADOVA, H.; GLASER, F. T.; GENTILE, C.; SIMONI, A.; GIESECKE, A.; ALBERT, J. T.; STANEWSKY, R. Temperature entrainment of *Drosophila*'s circadian clock involves the gene *nocte* and signaling from peripheral sensory tissues to the brain. **Neuron**, [S. l.], v. 64, n. 2, p. 251-266, 2009.

SEHGAL, A.; PRICE, J. L.; MAN, B.; YOUNG, M. W. Loss of circadian behavioral rhythms and per RNA oscillations in the *Drosophila* mutant *timeless*. **Science**, [S. l.], v. 263, n. 5153, p. 1603-1606, 1994.

SEHGAL, A.; ROTHENFLUH-HILFIKER, A.; HUNTER-ENSOR, M.; CHEN, Y.; MYERS, M. P.; YOUNG, M. W. Rhythmic expression of *timeless*: a basis for promoting circadian cycles in period gene autoregulation. **Science**, [S. l.], v. 270, n. 5237, p. 808-810, 1995.

SELBY, C. P.; SANCAR, A. A third member of the photolyase/blue-light photoreceptor family in *Drosophila*: A putative circadian photoreceptor. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 105-107, 1999.

SHEARMAN, L. P.; SRIRAM, S.; WEAVER, D. R.; MAYWOOD, E. S.; CHAVES, I.; ZHENG, B.; KUME, K.; LEE, C. C.; VAN DER HORST, G. T.; HASTINGS, M. H.; REPPERT, S. M. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. **Science**, [S. l.], v. 288, n. 5468, p. 1013-1019, 2000.

SHETTY, V.; MEYERS, J. I.; ZHANG, Y.; MERLIN, C.; SLOTMAN, M. A. Impact of disabled circadian clock on yellow fever mosquito *Aedes aegypti* fitness and behaviors. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 6899, 2022.

SO, W. V.; ROSBASH, M. Post-transcriptional regulation contributes to *Drosophila* clock gene mRNA cycling. **The EMBO Journal**, v. 16, n. 23, p. 7150-7160, 1997.

STANEWSKY, R.; KANEKO, M.; EMERY, P.; BERETTA, B.; WAGER-SMITH, K.; KAY, S. A.; ROSBASH, M.; HALL, J. C. The *cryb* mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. **Cell**, [S. l.], v. 95, n. 5, p. 681-692, 1998.

TAYLOR, B.; JONES, M. D. The circadian rhythm of flight activity in the mosquito *Aedes aegypti* (L.). The phase-setting effects of light-on and light-off. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 59-70, 1969.

TELES-DE-FREITAS, R.; RIVAS, G. B. S.; PEIXOTO, A. A.; BRUNO, R. V. The summer is coming: nocte and timeless Genes are influenced by temperature cycles and may affect *Aedes aegypti* locomotor activity. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 11, p. 614722, 2020.

TELES-DE-FREITAS, R.; BARBOZA, L.; BRUNO, R. V. Off with their heads: analysis of the circadian clock genes expression in the body of *Aedes aegypti*. **Chronobiology International**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 1060-1072, 2021.

TRPIS, M.; MCCLELLAND, G. A.; GILLETT, J. D.; TEESDALE, C.; RAO, T. R. Diel periodicity in the landing of *Aedes aegypti* on man. **Bulletin of the World Health Organization**, [S. l.], v. 48, n. 5, p. 623-629, 1973.

YUAN, Q.; METTERVILLE, D.; BRISCOE, A. D.; REPPERT, S. M. Insect cryptochromes: gene duplication and loss define diverse ways to construct insect circadian clocks. **Molecular Biology and Evolution**, [S. l.], v. 24, n. 4, p. 948-955, 2007.

ZHU, H.; YUAN, Q.; BRISCOE, A. D.; FROY, O.; CASSELMAN, A.; REPPERT, S. M. The two CRYs of the butterfly. **Current Biology**, [S. l.], v. 15, n. 23, p. R953-R955, 2005.





CAPÍTULO 7

RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS: ATIVIDADE INSETICIDA DE FENÓIS LIPÍDICOS (LCct)

Eduardo José de Arruda

Glenda Biasotto Porzani

Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira

Derisvaldo Rosa Paiva

Marcelo Mota Reginato

Rosângela Assis Jacques

Introdução

Os resíduos agroindustriais da cadeia produtiva do caju podem ser utilizados para diferentes propósitos, incluindo usos inseticidas. O líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) ou modificado termicamente após a tostagem (LCCt) tem abrangente aplicação na indústria. Este líquido é utilizado como matéria-prima para a produção de compostos derivados que, por sua vez, têm aplicações específicas industriais ou tecnológicas.

Os usos do LCCn e LCCt são conhecidos pelas comunidades na medicina popular tropical, tratamento de madeira contra cupins e outras aplicações, por exemplo, no tratamento de fungos, acne e outros. Todas estas atividades biológicas mostram o potencial do líquido da casca da castanha de caju (LCC) para uso em aplicações inseticidas, fungicidas e medicinais, e até como aditivo, em formulações plásticas e produção de polímeros.

Há uma vasta literatura disponível sobre aplicações do LCC que é um subproduto da cadeia produtiva e da indústria do caju. A composição dos LCCs é de fenóis substituídos que ocorre no líquido extraído por prensagem, solventes ou exsudados no tratamento térmico. Este resíduo agroindustrial tem baixo custo, disponível e renovável e pode ser empregada na fabricação de uma infinidade de produtos; alguns autores consideram que este resíduo pode vir a substituir o fenol em muitas aplicações com resultados equivalentes ou até melhores.

As moléculas de LCCs permitem a polimerização e, esta é a reação mais importante dos LCCs do ponto de vista das aplicações industriais. Os LCCs pode ser polimerizado por uma variedade de técnicas. Esta propriedade é devida a presença grupos funcionais e de cadeias laterais alifáticas que conferem às resinas uma maior hidrofobicidade, que é uma propriedade desejada para muitas aplicações e usos finais. A molécula também possui atividade biológica que está relacionada, principalmente, as insaturações das cadeias laterais e, que pode ser utilizada como sítio para polimerização e possui atividade biológica proeminente, mas não só, por exemplo, por adição utilizando radicais livres ou iniciadores iônicos. O tempo de polimerização do LCC na

presença de ácido sulfúrico é uma das especificações do LCC. O polímero ácido obtido do LCC é semelhante à borracha e possui baixa suscetibilidade à oxidação. O LCC pode ser polimerizado por sais como cloreto de zinco, cloreto estânico, sulfato ferroso, sulfato de alumínio, trifluoreto de boro, sais de ferro, cobalto, níquel, boro, cromo, chumbo, prata, mercúrio, manganês, etc. geralmente utilizados — na faixa de 1% a 6%. Os polímeros produzidos com LCC possuem propriedades excepcionais que os tornam produtos únicos para muitas aplicações industriais. Os polímeros apresentam flexibilidade devido à plastificação interna resultante da presença da longa cadeia lateral, que oferece resistência à água (hidrofobicidade). Os polímeros à base de LCC são compatíveis com ampla variedade de polímeros, como alquídicos, melaminas, poliésteres, etc.

Os trabalhos disponíveis na literatura relatam que o LCC sofre as reações químicas dos fenóis, por exemplo, as propriedades dos fenóis do LCC são utilizadas para produção de polímeros por reação de condensação por reação com formaldeído, furfural, entre outros. Os polímeros são produtos similares ao da condensação de fenol e formaldeído, mas que apresentam menos reatividade na síntese e no processo de reticulação. Os produtos de condensação de aldeídos e as resinas fenólicas obtidas do LCC são utilizados em aplicações como revestimentos de superfície e adesivos. Estudos mostram que as poliâminas produzidas a partir dos LCCs são utilizadas como agentes de cura para resinas epóxi. Os LCCs e derivados podem ser utilizados como antioxidantes, estabilizantes, plastificantes e auxiliares de processamento de compostos de borracha, modificadores de materiais plásticos e, podem ser utilizados para proteção e/ou resistência oxidativa como produtos de borracha natural reticulados com enxofre. Os LCCs pode ser adicionado à goma de borracha ou borracha nitrílica para melhorar a processabilidade, propriedades mecânicas e resistência a rachaduras e propriedades de corte dos vulcanizados. Derivados metálicos solúveis dos LCCs são usados para melhorar a resistência à oxidação e evitar a formação de borra de óleos lubrificantes. Os LCCs oxidado e derivados são úteis como desemulsificantes para emulsões de petróleo do tipo água em óleo.

Os LCCs tem inúmeras aplicações em indústrias à base de polímeros, como lonas de fricção (pó de fricção de caju, lonas de freio, revestimentos de embreagem, compósitos de pastilhas de freio), tintas e vernizes, esmaltes, lacas de caju, condutores elétricos, resinas de laminação, resinas compostas de borracha, cimentos de caju, polímeros à base de poliuretano, surfactantes, resinas epóxi, produtos químicos para revestimento anticorrosivo, produtos químicos para fundição e intermediários para a indústria química. O LCC oferece escopo e oportunidades diversas para o desenvolvimento de outros polímeros e produtos industriais customizados.

Por outro lado, os constituintes fenólicos dos LCCs possuem usos específicos na síntese de produtos e especialidades químicas. As estruturas dos componentes fenólicos dos LCCs podem ser utilizadas livres ou modificados para criação de um portfólio de produtos com amplo espectro físico-químico e biológico a partir dos constituintes da mistura. As espécies químicas que constituem a mistura constituída de estruturas moleculares quimicamente similares com 3 (três) grupos funcionais: anel aromático, grupo hidroxila e cadeias laterais alquilas com ligações simples e duplas ligadas ao anel aromático.

No LCCn o ácido anacárdico é o principal constituinte e, após a descarboxilação por tratamento térmico produz o cardanol (fenol de caju), outros constituintes do LCC podem ser utilizados em resinas, revestimentos de superfície, tintas, vernizes e materiais de fricção entre outros.

No LCCT o cardanol é o principal constituinte e pode ser utilizado como molécula básica para a produção de agentes de cura epóxi, diluentes e modificadores. As resinas Novolac à base de LCC são monômeros industriais versáteis e derivados do cardanol que podem ser propostas para aplicações compostas com propriedades térmicas e mecânicas nos compósitos finais. As aplicações podem ser realizadas em produtos mais avançados, por exemplo, as aplicações em emulsões, polímeros, nanomateriais e biotecnologia. Os LCCs pode ser utilizado como resina em produtos compostos de carbono ou compósitos. Os LCCs tem sido utilizado para produzir biocompósitos reforçados como termofixos verdes. As resinas fenólicas à base de cardanol

têm sido utilizadas como material de matriz/substrato em compósitos avançados com fibra (FRP).

A maior utilização dos LCCs como monômero para produtos poliméricos industriais pode ser uma proposta atraente devido ao baixo custo, disponibilidade abundante e natureza quimicamente reativa, entre outros atributos da mistura de fenóis lipídicos. O aspecto mais atrativo do LCC como matéria-prima é o baixo custo, por ser um subproduto da indústria de processamento da castanha de caju após a tostagem. Entretanto, há desvantagens como a não uniformidade na qualidade dos LCCs e variações na composição quando provém de locais diferentes, insolubilidade e a cor escura pode ser considerada pouco atraente têm sido obstáculos na utilização dos LCCs em larga escala. A cor conferida pelo LCC inicial aos polímeros à base de LCC é um problema sério. As variações na composição e qualidade dos LCCs e/ou outros problemas relacionados ao subproduto podem ser resolvidos por misturas ou adequações na composição após o controle de qualidade.

Os compostos fenólicos são substâncias com estrutura química que possuem, pelo menos, um anel benzênico (aromático) no qual pelo menos um hidrogênio da estrutura é substituído por grupo hidroxila. O grupo hidroxila aromático é capaz de doar elétrons ou átomos de hidrogênio, neutralizando radicais livres e outras espécies que reagem ao oxigênio do radical ou outras espécies químicas. Os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante e, podem ser agrupados em fenóis lipofílicos (lipídicos) e hidrofílicos. Os fenóis lipofílicos são encontrados em diferentes óleos vegetais, por exemplo, os tocoferóis, mas a maioria dos fenóis hidrofílicos estão presentes em espécies vegetais, nos quais muitas possuem interesse quimiotaxonômico, propriedades e estabilidades diferenciadas, incluindo os óleos, exsudatos vegetais e outros (El Riachy *et al.*, 2011a; El Riachy *et al.*, 2011b; Shahidi; Ambigaipalan, 2015; Peng; Shahidi, 2023; Pasquet *et al.*, 2024).

Os compostos fenólicos possuem disponibilidade como resíduo industrial, potencial de utilização, atividade biológica/inseticida, que podem ser precursores e/ou sofrerem modificação química para uso diferenciado, biossegurança/ecotoxicidade e, que devido a origem na-

tural podem ser reciclados a partir dos resíduos agroindustriais. A bioatividade dos fenóis lipídicos é diversa, mas são compostos bioativos e, possuem atividade inseticida para serem propostos como um recurso agroindustrial disponível e de baixo custo para o controle populacional de culicídeos e outros insetos vetores e pragas agrícolas.

A aplicabilidade pode ser obtida por percepção, similaridades e propriedades a partir das plantas que os produzem. Os fenóis lipídicos são misturas de moléculas de espécies moleculares que possuem propriedades hidrofílicas e lipofílicas a partir das diferentes composições/proporções, estruturas e funcionalidades físico-químicas e biológicas. Os compostos fenólicos são moléculas estáveis e a estabilidade é independentemente da afinidade por moléculas de água. Alguns dos fenóis lipídicos podem solubilizar-se parcialmente em água, serem neutralizados por bases para produzir moléculas surfactantes e soluções/dispersões/emulsões estáveis a partir de determinados graus de neutralização por base, quer seja parcial ou total a diferentes valores de pH (Pasquet *et al.*, 2024).

Para aplicações como inseticida, a solubilidade e pH dos fenóis são propriedades importantes, principalmente quando precisam ser adicionados a água. Os LCCs são insolúveis ou possuem baixa solubilidade e, podem formar gotículas oleosas na superfície ou interior da solução aquosa com a solução tornando-se ligeiramente ácida (aprox. pH 6); a solubilidade é baixa e parcial, de forma geral, poder-se-á esperar que as moléculas dos fenóis lipídicos tivessem alguma solubilidade devido à ligação de hidrogênio entre a água e o grupo hidroxila (OH) do fenol. Entretanto, as diferenças de polaridade dos grupos não permitem a plena solubilidade, a neutralização permite a formação de sais que podem ser obtidas por neutralização parcial ou total. A formação dos fenolatos podem alterar as polaridades e permitir solubilidade dos fenóis lipídicos em água com atividade inseticida conjugada.

Solubilidade e pH do fenol

A revisão da literatura mostrou que estes compostos fenólicos lipídicos possuem uma solubilidade parcial, principalmente, quando a molécula fenólica é adicionada à água e a torna ligeiramente ácida devido à desprotonação e ligação de hidrogênio entre a molécula de água e o grupo OH do fenol. Entretanto, apesar das interações, a solubilidade é limitada pelo grupo hidrofóbico que é relativamente maior de hidrocarbonetos ligados ao anel aromático. Estes fatos explicam por que até um pouco de água interage e dissolve em parte na mistura fenólica tornando-se líquida. Os fenóis possuem um ponto de fusão baixo (40°C); a presença de uma pequena quantidade de água, que pode ser considerada impureza, mas, que pode reduzir o ponto de fusão abaixo da temperatura ambiente (Mrázková; Sumczynski; Orsavová, 2023).

O fenol quimicamente é um ácido fraco, mas mais forte que os álcoois que possuem o mesmo grupo funcional OH- que pode ocorrer quando um íon hidrogênio (H^+) é perdido do OH no fenol, a carga negativa deixada no átomo de oxigênio pode ser deslocalizada no anel aromático; estabilizando-o. A dispersão da carga facilita a liberação do íon hidrogênio e, portanto, justifica o fenol ter uma natureza mais ácida que os álcoois. Pode-se comparar também com a acidez dos ácidos carboxílicos ($-COOH$) pela deslocalização da carga do ânion carboxila que está distribuída igualmente nos dois átomos de oxigênio da carbonila. Entretanto, a deslocalização é mais eficiente por ressonância no anel aromático. Nos ácidos carboxílicos, a simetria da estrutura mostra que a carga é igualmente partilhada por ambos os átomos de oxigênio. No grupo aromático do fenol, a carga negativa pode ser compartilhada pelos átomos de carbono do anel (**Figura 1**). Os átomos de carbono têm menos atração por elétrons do que os átomos de oxigênio. Consequentemente, a maior parte da carga negativa permanece no átomo de oxigênio e é menos fácil para os íons de hidrogênio escaparem desse ânion (Materska, 2010).

Figura 1 - Deslocalização e estabilização do íon fenóxido.



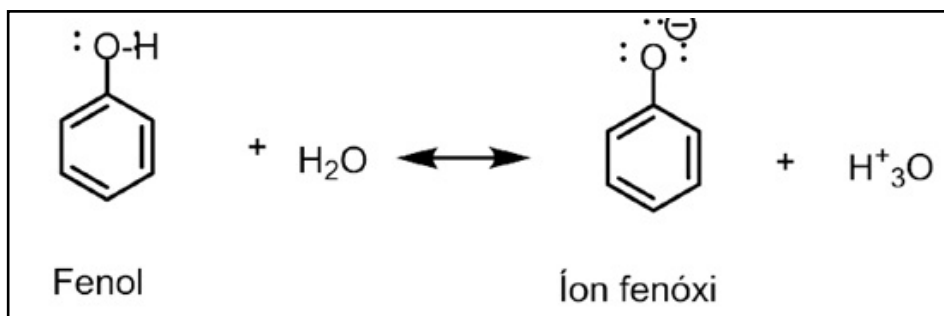
Fonte: Materska, 2010.

Os fenóis são ácidos mais fracos que os ácidos carboxílicos. Entretanto, a depender da estrutura química, interações e deslocalizações, outros fenóis podem ser mais ou menos ácidos que o fenol, dependendo do(s) outro(s) grupo(s) ligado(s) ao anel benzênico. O fenol é relativamente solúvel em água, álcool, clorofórmio, éter, glicerol, dissulfureto de carbono, petrolato, óleos voláteis e fixos, hidróxidos alcalinos aquosos e outros solventes.

Os fenóis preferem estar em meio aquoso para perder o hidrogênio e formar cátions como o íon fenóxido e sais fenolatos, que reforçam a natureza ácida dos fenóis. As moléculas dos fenóis são dependentes associarem para formar o íon fenóxido e, que podem resultar em reatividades, estabilidades, solubilidades e atividades biológicas diferenciadas (Mikolajczak; Tańska; Ogrodowska, 2021).

Os fenóis tendem a ser ácidos fracos com o equilíbrio deslocando-se para a esquerda (forma não dissociada). Outros fenóis podem ser mais ou menos ácidos do que o fenol a depender dos grupos ligados ao anel aromático. Estas moléculas na presença de uma base forte como NaOH pode ser neutralizada (reação de salificação) e, deslocar o equilíbrio para a direita, formando o íon fenóxido, à medida que a base remove o íon hidrônio da hidroxila fenólica e, o substitui pelo íon sódio (metal) (**Figura 2**).

Figura 2 - Equilíbrio da molécula do fenol/íon fenóxido em meio aquoso.



Fonte: Mikolajczak; Tańska; Ogrodowska, 2021.

Os lipídios fenólicos são considerados compostos com atividades multifuncionais, pois possuem grupos funcionais diversificados em compostos derivados de mono e di-hidroxifenóis (fenol, catecol, resorcinol, hidroquinona e outros) com atividade biológica diferenciada. O caráter anfifílico destas moléculas permite a intensa atividade celular e pode desempenhar papel biológico nos organismos, principalmente no sistema digestório e em pHs próximos da neutralidade, podendo interagir com proteínas e outros compostos intra e extracelulares. Por outro lado, a funcionalidade biológica como moléculas pró-surfactantes é única e, decorre do caráter anfifílico que permite as interações e/ou incorporação nos constituintes celulares, membranas lipossômicas e até eritrócitos (Meshginfar *et al.*, 2021; Shahidi; Dissanayaka, 2023).

Fenóis lipídicos, atividade biológica e ecotoxicidade

A atividade biológica pode ser avaliada por ensaios de ecotoxicidade para análise e garantia de biossegurança dos produtos derivados de fenóis lipídicos. Os ensaios de ecotoxicidade buscam a determina-

ção do potencial tóxico da molécula química e/ou misturas complexas dessas espécies moleculares que possuem atividade biológica e, que podem causar efeitos tóxicos e/ou poluentes no ambiente por resposta de organismos vivos.

Os estudos físico-químicos e biológicos podem ser combinados para a prospecção de novas moléculas inseticidas com abrangência de atividade e utilização, i.e. estas possam ser moléculas para diferentes aplicações. Ecotoxicidade pode ser realizado e/ou complementar metodologias que considerem os padrões de emissão e de qualidade de águas residuais no controle da poluição das águas, ar e solos.

Os ensaios de ecotoxicidade são metodologias importantes para compreensão, impactos e até o dimensionamento de atividades socioeconômicas para avaliação de impactos e recursos naturais. Os resultados podem ser utilizados para ações ou práticas que objetivem a redução da toxicidade e dos impactos com vista a melhoria da qualidade ambiental.

O lançamento de substâncias ou produtos tóxicos e/ou biologicamente ativos precisam ser monitorados, quantificados e avaliados e, os índices atualizados, de forma contínua, para a garantia do controle e/ou sobrevivência dos organismos e/ou espécies no ambiente.

Nos ensaios ecotoxicológicos podem ser utilizados diferentes ensaios e organismos alvos e não alvos. No ensaio de ecotoxicidade crônica, o organismo aquático utilizado é o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*. As respostas podem avaliar o efeito agudo, efeito crônico e não tóxico, descrevem os efeitos deletérios sobre organismos aquáticos a partir das respostas descritas. O efeito agudo é considerado uma resposta severa e rápida a um estímulo, a qual se manifesta nos organismos aquáticos em tempos curtos (0 a 48 horas), pode-se ter a morte ou letargia nas espécies amostradas; o efeito crônico tem como resposta ao estímulo que continua por longos períodos (1/10 do ciclo vital do organismo até a totalidade da vida) de exposição do organismo ao poluente e, expressa por alterações/mudanças comportamentais, fisiológicas, genéticas, reprodução, entre outros.

A partir destas respostas biológicas e efeitos tóxicos agudo ou crônico nas amostras, pode-se considerar que as respectivas amos-

tras ambientais nos espaços que foram coletadas, e avaliadas não apresentam condições para a manutenção da vida aquática, terrestre ou até aérea em alguns casos. Os ensaios ecotoxicológicos devem ser realizados e, são partes importantes dos estudos e propostas de novos produtos biologicamente ativos e, trazem contribuição importante para a biossegurança e usos dos produtos inseticidas que podem ser representados por uma única ou diferentes espécies químicas em mistura, formulações e dispositivos de contenção e liberação lenta dos produtos, de forma contínua nos espaços de controle das espécies alvo, incluindo, por exemplo, o controle populacional de insetos vetores e pragas agrícolas.

Fenóis lipídicos: LCCT e atividade biológica inseticida

Os esforços de pesquisa para contenção da propagação e incidências de arboviroses exigem novos produtos, estratégias e formas de controle populacional mais efetivas de insetos vetores (Zara *et al.*, 2016). Os usos inseticidas e larvicidas químicos são considerados a última barreira de controle rápido, baseado em inseticidas sintéticos que atuam como agentes neurotóxicos, análogos de hormônio juvenil, inibidores de síntese de quitina e outros, que ocasionam a morte ou dificuldades na reprodução a partir das larvas e, que pode afetar o desenvolvimento a partir dos estádios até o inseto adulto (alado) e, que pode reduzir a incidência e impactos de doenças na saúde pública (Braga; Valle, 2007; Zara *et al.*, 2016; WHO, 2014; WHO, 2017; WHO, 2018, WHO, 2024).

Os larvicidas químicos aprovados pelas diretrizes da Organização Mundial da Saúde para o controle do *Ae. aegypti* são: diflubenzuron e novaluron (benzoilureias), pirimifos-metil (tiofosfato orgânico), piriproxyfen (éter piridiloxypopil) e temephos (organofosfato) (WHO, 2017). Entretanto, devido ao aumento dos níveis de resistência dos insetos aos larvicidas químicos, esses métodos de controle se tornam

limitados e pouco eficientes no controle populacional quando avaliadas as décadas de controle realizado (WHO, 2009; Araújo *et al.*, 2015; Löwy, 2017; Poncio *et al.*, 2023); apesar de pesquisas recentes demonstraram que o uso de inseticidas sintéticos apresenta elevada toxicidade para organismos não alvos (Ara; Haque, 2021; Nath; Puzari; Jamir, 2024; Epa, 2024).

Apesar dos avanços nos inseticidas sintéticos, os desafios relacionados ao controle do *Ae. aegypti* e da rápida disseminação das arboviroses em todo o mundo continuam. Este fato considera essencial a adoção de novos produtos e estratégias para controle populacional do vetor (Zara *et al.*, 2016). Os princípios da Química Verde podem nortear a síntese ou produção de novos inseticidas, reciclagem e até a reutilização de resíduos de origem vegetal produzidos em larga escala como fonte de moléculas ativas e, que devem ser valorizados e, ainda possui baixo custo. Os resíduos oriundos de agroindústrias, são alternativas interessantes para síntese ou produção de novos produtos com atividade biológica, incluindo atividade inseticida (Lomonaco *et al.*, 2009), em especial, com potencial para controle de insetos vetores em estágios imaturos, nos criadouros, e até adultos (alados) (WHO, 2009).

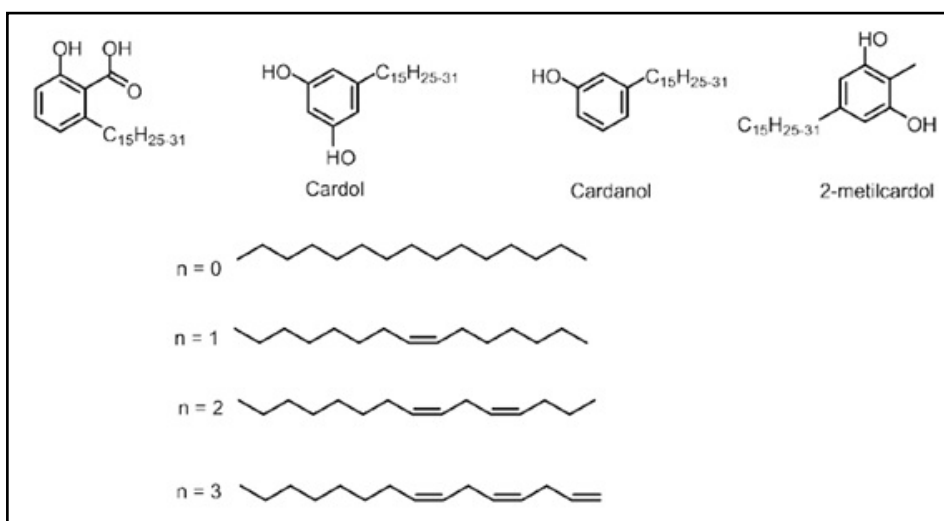
Em razão disso, atenção especial tem sido voltada aos resíduos agroindustriais por serem provenientes de fontes naturais de compostos bioativos que, quando empregada tecnologia adequada, podem ser convertidos em produtos comerciais de alto valor agregado (Laufenberg; Kunz; Nystroem, 2003; Pelizer; Pontieri; Moraes, 2007). O uso de resíduos agroindustriais com moléculas bioativas e/ou potencial larvicida pode auxiliar no controle de doenças de transmissão vetorial (Carvalho *et al.*, 2019; Kala *et al.*, 2019; Jorge *et al.*, 2020). A busca pela reutilização de resíduos agroindustriais de modo eficiente é parte fundamental para pesquisas e garantia da síntese de novos produtos que sejam sustentáveis, ambientalmente seguros e economicamente viáveis a partir da sua eficácia no controle dos insetos alvos a partir de várias formas de apresentação, sítios alvos e/ou metabolismo (Conway; Haslitt; Swarts, 2023; Guzmán *et al.*, 2024; Ferrero *et al.*, 2024).

A espécie *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), é uma árvore tropical nativa da região nordeste do Brasil (Asogwa; Hammed; Ndubuaku, 2008; Silva *et al.*, 2018), amplamente cultivada no mundo todo, principalmente na Ásia, Índia e no leste da África, devido aos frutos comestíveis, compostos medicinais, propriedades da madeira e outros (Trevisan *et al.*, 2006; Lomonaco; Mele; Mazzetto, 2017).

A análise a partir da cadeia de produção do caju diz-se que o caju é uma fruta, constituído pelo pêndulo (pseudofruto) e pelo fruto (castanha). Na casca da castanha (mesorcapo), encontra-se um óleo viscoso de cor marrom-avermelhado que pode ser extraído ou exsuda por prensagem, solvente ou aquecimento e, denominado LCCn. Este composto é majoritariamente constituído por ácido anacárdico (60-70%), cardanol (10-20%), cardol (3-10%) e 2-metilcardol (2-5%) (Mazze-
tto; Lomonaco; Mele, 2009; Lomonaco; Mele; Mazzetto, 2017).

Uma característica estrutural importante dos ácidos anacárdicos é grau de insaturação da cadeia carbônica, essa diferença também reflete no grau de polaridade das moléculas (Chung *et al.*, 2024). Essas variações das insaturações e do tamanho da cadeia lateral influenciam diretamente na atividade biológica dos ácidos anacárdicos apresentando uma maior, menor ou nenhuma eficácia para determinada aplicação (**Figura 3**).

Figura 3 - Principais constituintes do líquido da casca do caju *in natura* (LCCn).



Fonte: Chung *et al.*, 2024.

Diversas técnicas podem ser empregadas para a extração do produto oleoso, e estas podem ser classificadas como mecânicas, químicas (extração por solvente) e térmicas (extração por pirólise) e diferentes aplicações podem ser propostas (Lomonaco; Mele; Mazzetto, 2017; Mgaya *et al.*, 2019; Mubofu; Mgaya, 2018).

A depender do processo de extração a frio (prensagem ou solvente) ou a quente (tostagem), pode-se ter o LCCn ou LCCT após o tratamento térmico na tostagem, as composições dos LCCs são alteradas e possuem diferentes % e tipos de fenóis lipídicos. O LCCn é rico em ácido anacárdico e cardol e o LCCT rico em cardanol após a descarboxilação por tratamento térmico do ácido anacárdico (**Tabela 1**). Estas composições de LCCs são diferenciadas em composição, tipos, propriedades e, dependem do processo extração, origem da castanha do caju e outros (Rodrigues *et al.*, 2011).

Tabela 1 - Composição do líquido da casca da castanha de caju (LCC) natural e técnico.

Compostos fenólicos	LCC natural (%)	LCC técnico (%)
Ácido Anacárdico	72,0 a 82,0	1,0 a 2,0
Cardanol	1,5 a 9,0	68,0 a 95,0
Cardol	14,0 a 20,0	4,0 a 20,0
2-metil cardol	1,5 a 4,0	1,0 a 4,0

Fonte: Elaborado pelos autores, 2024. Adaptado de Anoopkumar *et al.*, 2024.

A revisão da literatura foi realizada e estudos realizados pelo grupo de pesquisa confirmam a atividade biológica/inseticida e até atividades biológicas complementares. A atividade biológica dos LCCs tem sido relatada por diferentes autores, por exemplo, Carvalho *et al.* (2019) que relataram atividade larvicida e pupicida do LCCn e LCCt em *Ae. aegypti* e *Cx quinquefasciatus*. Os LCCs possuem atividade larvicida e pupicida comprovada contra *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* com intervalos de concentrações variáveis a partir da composição das frações. As frações do óleo de *A. occidentale* exerceram efeitos larvicidas contra ambas as espécies de mosquitos (CL_{50} 5,4-22,6 mg/L), e foram eficazes contra pupas (CL_{50} 90,8-109,7 mg/L). De todas as frações testadas, o cardol demonstrou os efeitos larvicidas e pupicidas mais fortes e apresentou atividade residual mais prolongada contra as larvas e pupas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* em condições de campo (Carvalho *et al.*, 2019).

No processamento industrial, quando o LCCn é submetido a altas temperaturas (180-190°C), o ácido anacárdico, principal constituinte, passa por um processo de descarboxilação, sendo transformado em cardanol, obtendo-se então o LCCt que é composto principal (Rodrigues *et al.*, 2011). A constituição do líquido contém cardanol (60-70%), cardol (10-20%) e 2-metilcardol (2-5%) (Lomonaco; Mele; Mazzezzo, 2017). O LCCt é obtido através de técnicas de tostagem (Gedam; Sampathkumaran, 1986; Kumar; Dinesha; Rosen, 2018; Nyirenda *et al.*, 2021; Lomonaco; Mele; Mazzezzo, 2017), processamento em banho de óleo quente (Gedam; Sampathkumaran, 1986; Lomonaco; Mele; Maze-

tto, 2017) ou até utilizando fogões solares (Subbarao; Krishna Prasad; Prasad, 2011) entre muitos.

Neste contexto, os LCCs são alternativas para controle populacional do mosquito *Ae. aegypti* e outros culicídeos, por ser *commodity* e resíduo agroindustrial de baixo custo com valor de US\$ 300/tonelada (Matos; Silva; Vieira, 2008), sendo produzido cerca de 1 milhão de toneladas, anualmente (Amorati *et al.*, 2001; Lomonaco; Mele; Mazzetto, 2017); o composto possui lipídios fenólicos com atividade biológica e potencial inseticida (Lomonaco *et al.*, 2009; Guissoni *et al.*, 2013; Torres; Garbo; Walde, 2015; Carvalho *et al.*, 2019). Este produto possui atividade biológica e larvicida que provém de fontes naturais e, sendo proposto como promissor com intervalos de CL_{50} inferior a 50 mg/L e a 100 mg/L, i.e sendo considerado como ativo e/ou moderadamente ativo (Cheng *et al.*, 2003; Kiran *et al.*, 2006); neste intervalo Komalamisra *et al.* (2005) consideram que compostos ou misturas de compostos com CL_{50} entre 100 e 750 mg/L podem ser considerados e classificados como eficazes, e com CL_{50} maiores que 750 mg/L, são classificados como inativos.

Os estudos disponíveis na literatura indicam o potencial inseticida larvicida e pupicida de resíduos da castanha de caju contendo fenóis lipídicos para controle populacional do *Ae. aegypti* a partir da atividade larvicida (Lomonaco *et al.*, 2009; Carvalho *et al.*, 2019) e, com atividade biológica para microrganismos que pode ser utilizado nos criadouros como opção complementar na reprodução por alterar ou induzir condições não favoráveis a microbiota dos criadouros (Souza *et al.*, 2022).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas e essenciais para crescimento, reprodução e defesa a partir de condições de estresse (microrganismos, lesões, mudanças climáticas severas, deficiência nutricional, entre outros). Os compostos que constituem o LCCt após a transformação térmica no processamento industrial são prioritariamente cardanóis e, podem ser reciclados e reutilizados para diferentes propósitos.

A disponibilidade dos resíduos agroindustriais que possuem baixo custo, facilidade de processamento e podem ser neutralizados

com a manutenção da atividade biológica permite a proposta de novos inseticidas que tem crescido devido à intensa atividade biológica/inseticida. Interessante perceber que a atividade/mecanismos envolvem a oxidação lipídica, produção de radicais livres e interferências metabólicas, assim, podem ser propostos como ativos multifuncionais em formulações inseticidas para o controle populacional de insetos vetores e pragas agrícolas.

Considerando o potencial dos resíduos agroindustriais que possuem atividade biológica e inseticida; os subprodutos agroindustriais como os LCCs, mas, principalmente os LCCT, podem ser utilizado como fonte de bioativos para inúmeras aplicações, incluindo produtos multifuncionais e/ou estratégias inteligentes para controle populacional do inseto vetor, uma vez que os custos de produção são mais baixos e as tecnologias simples quando comparados ao processamento do LCCn, que chegam a ser vendidos por, aproximadamente, 0,15-0,30 USD/kg; apesar das variações cambiais (Mazzetto; Lomonaco; Mele, 2009).

Entretanto, no que se refere à atividade larvicida, o principal fator limitante para o uso do LCCT está relacionado a sua hidrofobicidade, que dificulta a aplicação em ambientes aquáticos onde estão os criadouros de larvas do *Ae. aegypti* (Almanzor; Ho; Carvajal, 2016; Dhar-Chowdhury *et al.*, 2016; Kumar; Dinesha; Rosen, 2018; Jorge *et al.*, 2020). Diante disso, tornaram-se recorrentes estudos que realizem novos produtos não convencionais, processos e/ou modificações químicas no LCCT, a fim de torná-lo mais hidrossolúvel e potencialização da atividade inseticida (Kala *et al.*, 2019).

A efetividade e atividade inseticidas dos fenóis lipídicos livre/modificados, neutralizados e na forma de emulsão foram publicados em estudos de ecotoxicidade são mostrados nas Tabelas 2, 3 e 4 para organismos não alvos. Pode-se perceber que, em geral, os bioprodutos derivados do LCCT (resíduo agroindustrial da cadeia produtiva do caju) obtidos a partir das reações com bases inorgânicas (NaOH e KOH) foram relativamente mais tóxicos para o *Ae. aegypti*.

Jorge *et al.* (2020) realizaram uma sulfonação do LCCT com ácido sulfúrico fumegante e hidróxido de sódio, obtendo uma mistu-

ra, LCct-sulfonato de sódio (mistura LCctSNa) com propriedades surfactantes. Porém, após a modificação, o produto perdeu a atividade larvicida. No entanto, nesse mesmo estudo, quando emulsionado (emulsão 1:6; 1 LCct + mistura 6 LCctSNa), o produto gerado (emulsão LCct + LCctSNa) recuperou atividade larvicida com CL_{50} de 110,6 mg/L (**Tabela 2**), em larvas de *Ae. aegypti*.

Tabela 2 - Concentração inibitória (CI), efetiva (CE) e letal (CL) em valores de 50% ($CI/E/L_{50}$) dos testes realizados nos diferentes organismos para determinação da toxicidade, com nível de confiança de 95%.

Organismo	Endpoint	LCct (mg/L)	LCctSNa (mg/L)	Emulsão (mg/L)
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CI_{50}	0,33 (0,30-0,37)	7,10 (5,60-15,40)	2,10 (1,96-2,17)
<i>Daphnia similis</i>	CE_{50}	0,12 (0,09-0,15)	0,75 (0,64-0,89)	1,05 (0,91-1,26)
<i>Oreochromis niloticus</i>	CL_{50}	25,46 (23,63-27,42)	250,30 (242,24-258,62)	41,44 (39,06-43,89)

Legenda: LCct, líquido da casca da castanha de caju modificado termicamente após a tosta-gem; LCctSNa, LCct-sulfonato de sódio.
Fonte: Adaptado de Jorge et al., 2022.

A atividade larvicida está relacionada com a presença de insaturação na cauda apolar dos fenóis lipídicos, tornando-os capazes de alterar a permeação da membrana celular e induzir toxicidade em larvas de *Ae. aegypti*. A emulsão LCct + LCctSNa proporcionou atividade larvicida em *Ae. aegypti* com a solubilidade, que é importante propriedade para a dispersão e atividade inseticida nos criadouros aquáticos. A atividade biológica pode ser conferida às emulsões e, relacionada às micelas que são vesículas que podem a partir do solvente ter core diferenciado na produção de emulsões com tamanho e distribuição diferenciados. Por apresentarem dimensões menores, nano ou micro funcionam como carreadores para transporte, penetração e danos nas células e/ou metabolismo no organismo das larvas com intensos danos celulares e metabólicos, incluindo a apoptose e necrose celular e morte do inseto.

Nascimento *et al.* (2022) obtiveram os bioprodutos derivados do LCcT através de reações com bases inorgânicas, Hidróxido de Sódio (NaOH) e Hidróxido de Potássio (KOH); e orgânicas, Monoetanolamina (MEA), Dietanolamina (DEA) e Trietanolamina (TEA), por neutralização parcial das hidroxilas fenólicas totais. Todos os bioprodutos derivados do LCcT apresentaram CL_{50} -24h inferior a 5 mg/L para as larvas da linhagem Rockefeller. Os estudos mostraram que as concentrações estão abaixo de 12 mg/L (ppm; mg/L) para as larvas da linhagem Dourados (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Concentração inibitória (CI), efetiva (CE) e letal (CL) em valores de 50% (CI/E/ L_{50}) dos testes realizados nos diferentes organismos para determinação da toxicidade, com nível de confiança de 95%.

Organismo	Endpoint	LCcTNa (mg/L)	LCcTK (mg/L)	LCcTMEA (mg/L)	LCcTDEA (mg/L)	LCcTTEA (mg/L)
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CI ₅₀	0,49 (0,46-0,53)	0,73 (0,64-0,83)	1,14 (0,96-1,32)	1,10 (0,83-1,39)	1,11 (0,82-1,27)
<i>Daphnia similis</i>	CE ₅₀	1,15 (0,77-1,74)	0,89 (0,51-1,56)	1,12 (0,84-1,51)	2,28 (1,81-2,89)	1,04 (0,71-1,53)
<i>Oreochromis niloticus</i>	CL ₅₀	210,63 (193,39-229,41)	254,35 (235,02-275,28)	519,48 (501,07-538,57)	225,32 (208,35-243,68)	221,49 (212,87-230,46)

Legenda: LCcT, líquido da casca da castanha de caju modificado termicamente após a tostagem; LCcTNa, LCcT-neutralizado com NaOH; LCcTK, LCcT-neutralizado com KOH; LCcTMEA, LCcT-neutralizado com monoetanolamina; LCcTTEA, LCcT-neutralizado com trietanolamina.

Fonte: Adaptado de Nascimento *et al.*, 2022; 2024.

Em geral, os bioprodutos derivados do LCcT (resíduo agroindustrial da cadeia produtiva do caju) obtidos a partir das reações com bases inorgânicas (NaOH e KOH) foram relativamente mais tóxicos para ambas as linhagens de *Ae. aegypti* (**Tabelas 2, 3 e 4**). Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas entre os valores de CL_{50} para todos os ativos nos testes com a linhagem Rockefeller, os resultados mostraram que o LCcTK obtido a partir da neutralização

do LCCT com KOH apresentou a maior atividade larvicida (CL_{50} de 1,98 mg/L).

Tabela 4 - Concentração inibitória (CI), efetiva (CE) e letal (CL) em valores de 50% ($CI/E/L_{50}$) dos testes realizados nos diferentes organismos para determinação da toxicidade, com nível de confiança de 95% (dados não publicados).

Organismo	Endpoint	LCCTNa 50% (mg/L)
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CI_{50}	0,70 (0,62-0,79)
<i>Daphnia similis</i>	CE_{50}	0,47 (0,37-0,59)
<i>Oreochromis niloticus</i>	CL_{50}	190,84 (160,68-226,67)

Legenda: LCCTNa, líquido da casca da castanha de caju modificado termicamente após a tostagem neutralizado com NaOH.

Fonte: Dados adaptados de Nascimento *et al.*, 2022.

A solubilidade dos fenóis lipídicos pode ser aumentada a partir da neutralização com manutenção da atividade biológica. A atividade larvicida dos bioprodutos do LCCT livre, parcial e total neutralizado (por exemplo, o sal LCCTNa) está relacionada com as cadeias carbônicas insaturadas e a sua integridade. As insaturações na cauda apolar dos fenóis lipídicos mantêm a atividade biológica e inseticida. A neutralização parcial do LCCT produz diferentes misturas ativas com maior hidrossolubilidade aquosa que depende do grau de neutralização, mas permite com facilidade de emulsões estáveis por agitação e veiculação das espécies auto-agregadas (micelas) no metabólito do inseto, principalmente, para o exercício da atividade *in situ* do LCCT encapsulado no núcleo (core) da micela, quando em microambientes aquosos. O núcleo (core) de LCCT não neutralizado, pode ser nano ou microencapsulado e estável nas emulsões produzidas com o LCCT neutralizado (sal). Esta neutralização não altera a cadeia carbônica insaturada e, esta porção ativa da molécula está conservada e pode ancorar nas células e/ou metabolismo do inseto, realizar a permeação

celular e atividade biológica *in situ* induzindo danos celulares contínuos no metabolismo do inseto.

As neutralizações parciais do LCCT podem ser realizadas a partir da hidroxila fenólica com diferentes porcentagens de NaOH em base molar e/ou percentuais (%), pelo mesmo processo descrito na patente Produto baseado em LCC para controle de insetos vetores, parasitas e pragas agrícolas (proc.: BR 10 2019 014226 0) (Arruda *et al.*, 2019). Buscou-se determinar concentração de NaOH e % de neutralização e a influência na solubilidade e atividade biológica a partir de misturas LCCs com a formação dos sais sódicos (fenolatos) e/ou eficácia da atividade larvicida relacionada as misturas parciais ou total neutralizadas; além de produzir emulsões com dispersibilidade/solubilidade do produto final como um inseticida obtido de resíduo agroindustrial, na forma de parcialmente emulsificado e/ou auto-emulsionável que tem potencial como produto de tecnologia social. Os processos são simples e obtidos por neutralização, baixo custo e com eficácia para controle de insetos vetores e pragas com potencial uso nas comunidades carentes. A pesquisa com o LCCT foi realizada e obtidos 10 (dez) bioativos derivados do LCCT neutralizados com NaOH (LCCTNa) nas porcentagens (%) de 1; 2,5; 5; 10; 15; 20; 25; 50; 75 e 100%, que apresentaram atividade larvicida com CL_{50} de 11,98; 12,87; 17,4; 10,56; 8,76; 9,15; 6,44; 5,94; 7,64 e 8,39 mg/L, respectivamente.

Os resultados dos estudos do grupo de pesquisa mostraram que a maior atividade inseticida/larvicida foi encontrada no intervalo de neutralização de 25%-100% que pode ser utilizado para a produção de produtos auto-emulsionáveis e para controle populacional de formas imaturas do *Ae. aegypti*, uma vez que a neutralização de 25%-50% apresentou maior atividade larvicidas (CL_{50} 6,44-5,94 mg/L), menor quantidade de NaOH utilizado na neutralização e melhor formação de soluções e/ou partículas auto-emulsionáveis. A garantia e a validação dos resultados podem estar baseadas na solubilidade, estabilidade e capacidade de formação de micelas LCCT-LCCTNa na faixa de 25%-100% em água.

Experimentos com LCCT neutralizados parcial e total (100%) demonstraram que as melhores condições de solubilidades e atividade

biológica foram obtidas a partir de 50% de neutralização com NaOH, com potencial de formação de emulsões estáveis com LCCT e, uma distribuição de tamanhos de partículas com distribuição de tamanho com nano e microcápsulas de LCCT+LCCTNa. A análise mostrou que a neutralização parcial do LCCT e a mistura de LCCT e LCCTNa (neutralizado) com diferentes neutralizantes orgânicos (aminas; monoe-tanolamina, dietanolamina e trietanolamina e outras) e inorgânicos (NaOH e outros) que podem ser sugeridos para a produção de sistemas inseticidas micelares (LCCT+LCCTNa) que possuem estabilidade adequada para permitir o carregamento/veiculação com intensa atividade biológica que pode ser proposta como uma estratégia de controle populacional a partir de produtos não convencionais baseados em ativos vegetais e/ou resíduos agroindustriais (Ghosh; Mukhertjee; Chandrasekaran, 2013; Mustafa; Hussein, 2020; Andrade; Guilger-Casagrande; Germano-Costa, 2022; Mohapatra; Chandrasekaran, 2023; Duarte *et al.*, 2024).

Os inseticidas baseados em fenóis lipídicos com maior grau de neutralização (>50%) podem ser sugeridos e utilizados para emulsão e/ou potencialização de efeitos biológicos na forma de misturas com outros produtos, incluindo produtos inseticidas convencionais e não convencionais que sejam compatíveis com surfactantes aniônicos e/ou outros inseticidas a partir dos estudos de compatibilidade.

Os fenóis lipídicos podem ser propostos como inseticidas e/ou sistemas inseticidas para o controle populacional do inseto que possui adaptabilidade e competência vetorial devido as condições de adaptação antropofílicas do *Ae. aegypti* no meio urbano e periurbano com parte complementar de controle a partir do ciclo de reprodução nos meios aquáticos, por exemplo, depósitos de água. Os sistemas de emulsão LCCT+LCCTNa for proposto pode-se considerar que os biolarvicidas são sistemas auto-emulsionáveis com vantagens de preparo, atividade e aplicações a partir de diluições sucessivas, incluindo até as águas residuais e/ou descartes no ecossistema aquático, caso estes sejam lançados em mananciais que possuem atividade biológica.

Neste aspecto, a ecotoxicologia é parte importante para a utilização de novos produtos no controle populacional do inseto vetor;

entretanto, a realização dos estudos de forma continuada permite avaliar a eficiência e segurança ambiental destes produtos bioativos baseados em LCCT e, permitindo identificar os riscos ecotoxicológicos para organismos aquáticos não alvos; pois a ecotoxicologia é o ramo da toxicologia que estuda os efeitos adversos de espécies químicas sobre o ecossistema, principalmente aquático (Araújo; Caldas; Oliveira-Filho, 2022; Gambardella; Pinsino, 2022). Os ecossistemas aquáticos são considerados destinos de grande variedade e quantidade de contaminantes (Zagatto; Bertoletti, 2008); e para avaliar os efeitos dos contaminantes químicos para biota aquática, pode-se utilizar a partir da caracterização físico-química a biológica com ensaios de toxicidade com organismos aquáticos em condições de laboratório (Niva; Brown, 2019; Tlili; Mouneyrac, 2021; Wang *et al.*, 2021; Braga *et al.*, 2024).

Os ensaios ecotoxicológicos são estudos baseados na exposição de organismos-testes que sejam representativos do ambiente a diferentes concentrações da substância e/ou mistura de substâncias por um período temporal. Nestes ensaios são avaliados os efeitos das espécies químicas sobre as funções biológicas do organismo, danos metabólicos e morte, que podem afetar a biodiversidade terrestre e aquática (Sisinno; Oliveira-Filho, 2013; Niva; Brown, 2019; Tlili; Mouneyrac, 2021).

No geral, é recomendável que os efeitos tóxicos destas substâncias sejam avaliados em diferentes organismos aquáticos pertencentes a pelo menos 3 (três) níveis tróficos distintos da cadeia alimentar (Sisinno; Oliveira-Filho, 2013; Ford *et al.*, 2021), como produtores: microalgas unicelulares; consumidores primários: Cladoceras; e consumidores secundários: diferentes espécies de peixes (Nascimento *et al.*, 2022; Jorge *et al.*, 2022). Visto que, devido à complexidade dos ecossistemas naturais e as interações entre os seres vivos, danos a qualquer um destes organismos podem gerar impacto em todo o ecossistema aquático ou não (FAO, 2024).

As microalgas são organismos essenciais aos ecossistemas aquáticos, pois incorporam a energia obtida do sol à biomassa. São responsáveis pela produção de oxigênio e servem de alimento para

a maioria dos peixes e invertebrados presentes nesse ambiente (Satyavani *et al.*, 2012; Sisinnio; Oliveira-Filho, 2013). Os efeitos tóxicos gerados por agentes tóxicos sobre esses organismos podem resultar numa redução de oxigênio e na produção de substâncias primárias que afetam a cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos, impactando diretamente o meio ambiente (Cetin; Yanikoglu, 2006). Dentre os procedimentos recomendados para avaliação toxicológica em algas, destacam-se os estudos de inibição do crescimento da biomassa algal, que são utilizados na avaliação de risco aquática (Sisinnio; Oliveira-Filho, 2021). Entre as espécies de algas mais utilizadas, merecem destaque a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, anteriormente denominada *Selenastrum capricornutum*, e *Raphidocelis subcapitata*, que é considerada uma espécie modelo para algas de água doce e, podem ser úteis nos ensaios ecotoxicológicos (Heijerick; Schamphelaere; Janssen, 2002; Machado; Soares, 2024). Internacionalmente, para a realização desse ensaio, são utilizados os protocolos de inibição de crescimento de algas da Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2011). Particularmente no Brasil, o método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*) é padronizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT-NBR 12648, 2018). Norma específica, um método para avaliação da toxicidade crônica de amostras líquidas e produtos/substâncias químicas solúveis ou dispersas em água para as microalgas *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus*, *Monoraphidium dybowskii*, *Raphidocelis subcapitata* (sinonímia *Pseudokirchneriella subcapitata*) e outras.

Os microcrustáceos são consumidores primários utilizados na maioria das baterias de ensaios ecotoxicológicos, devido à facilidade de cultivo em laboratório e sua importância em diversas cadeias alimentares como fonte de alimento para peixes (Silva *et al.*, 2020). Destaca-se a observação do efeito dos agentes tóxicos sobre a mobilidade de microcrustáceos de água doce da ordem Cladocera e do gênero *Daphnia* (APHA, 1998; Sisinnio; Oliveira-Filho, 2021). Ademais, a reprodução assexuada desses organismos por partenogênese assegura a geração de indivíduos geneticamente idênticos, ou seja, proporciona organismos-testes com sensibilidade relativamente constante (Bu-

ratini; Bertolleti; Zagatto, 2004). A espécie *Daphnia magna* é a mais utilizada internacionalmente, junto com o protocolo de imobilização aguda da OECD 202 (OECD 2004). No entanto, no Brasil os testes de toxicidade são comumente conduzidos com a espécie *Daphnia similis* (Buratini; Bertolleti; Zagatto, 2004), que é recomendada como organismo-teste pelo método de ensaio com *Daphnia* spp. da ABNT-NBR 12713 (2022).

Muitas espécies de peixes podem ser utilizadas como bioindicadores dos ecossistemas aquáticos (Costa *et al.*, 2008). São consumidores secundários e representam os vertebrados nas avaliações ecotoxicológicas (Sisinno; Oliveira-Filho, 2021). Dentre as espécies de peixe, destaca-se a espécie *Oreochromis niloticus*, conhecida como tilápia do Nilo, que é um peixe comercial importante no Egito e no mundo (El-Sayed, 2006).

A tilápia do Nilo é conhecida como um adequado organismo modelo em pesquisas toxicológicas, especialmente na avaliação da segurança ambiental de agentes químicos, devido ao fácil manuseio, aquicultura e manutenção em laboratório, e por ser uma espécie que responde rapidamente a alterações ambientais (Almeida; Wethington; Kessler, 2002; Garcia-Santos; Fontainhas-Fernandes; Wilson, 2006). Os ensaios de toxicidade aguda com peixes têm na letalidade seu principal desfecho (Sisinno; Oliveira-Filho, 2021). Sendo os protocolos de toxicidade aguda em peixes da OECD 203 (2019), assim como as diretrizes brasileiras do método de ensaio com peixes (Cyprinidae) da ABNT-NBR 15088 (2022), as normalmente utilizadas.

Para exemplificar os estudos ecotoxicológicos potenciais e a sua importância, as **Tabelas 2, 3 e 4** mostram os resultados da atividade inseticida/larvicida e o potencial biológico de misturas e/ou espécies inseticidas propostas a partir de fenóis lipídicos do LCCT por neutralização total e parcial com diferentes bases inorgânicas e orgânicas para controle de culicídeos, i.e *Ae. aegypti*. A neutralização dos fenóis lipídicos permite manter a estrutura molecular intacta, análise da relação estrutura-atividade e, precisar a atividade biológica dos constituintes do LCCT, principalmente, de cardanóis e estruturas similares com dados da literatura. A modificação por neutralização permite

ainda agregar propriedades de solubilização, agregação molecular e estabilização/estabilidade das emulsões por formação de vesículas como nano e microestruturas (micelas) que podem ser utilizadas para a veiculação do ativo insolúvel e toxicidade no metabolismo do inseto para exercício da atividade inseticida até de forma prolongada. Os procedimentos para obtenção desses produtos são realizados por reciclagem, uso de produtos de baixo custo e tecnologia simples por neutralização e, possuem o potencial para compor o rol de tecnologias sociais, viabilizado a partir da produção *in loco* pelas comunidades carentes ou sem recurso no Brasil para o controle populacional do inseto vetor e redução da incidência das doenças vetorizadas.

Os metais podem ser utilizados para a potencialização de atividade biológica, i.e. inseticida ou parasiticida. Estudos realizados por Lima *et al.* (2015); Bjerregaard; Andersen; Andersen (2015); Dolenga *et al.* (2023); Arruda *et al.* (2024) e outros que utilizaram metais, i.e. Cu(II), em combinação com moléculas ativas e não ativas para potencialização de efeitos biológicos. As combinações, quando compatíveis, podem ser propostas como conjugações em sistemas sinérgicos para exercícios de efeitos biológicos, incluindo inseticidas e, que podem ser propostas e utilizadas para controle populacional de insetos vetores e pragas agrícolas.

Conclusões

O capítulo relata o potencial da aplicação de resíduos agroindustriais (fenóis lipídicos neutralizados ou modificados quimicamente para indução de distúrbios e/ou danos fisiológicos *in situ* ao metabolismo do inseto. A disponibilização dos compostos ou misturas com íons Cu(II), permeação e induções de danos celulares e teciduais podem verificadas *in situ* como a produção de espécies químicas tóxicas pelo metabolismo do inseto e que funcionam como espécies indutoras de efeito inseticida para produzir a partir das espécies químicas e radicais livres danos físicos e metabólicos que ocasionam a mor-

te do inseto. A proposta não convencional pode ser proposta como uma nova estratégia de controle populacional para insetos vetores e pragas agrícolas. As moléculas e/ou combinações podem ser consideradas como uma forma de controle a partir do metabolismo ativo do inseto para indução *in situ* de radicais livres, principalmente, para danos físicos e metabólicos e/ou espécies radicais por exercício da atividade biológica a partir do inseto. Por outro lado, o risco ambiental pode ser contido por diluição, fitoabsorção e permanência no corpo do inseto (biomassa) para reciclagem ambiental. Esta estratégia pode ser considerada uma forma de uso do biomimetismo que utilizar reações químicas e/ou processos de síntese e reciclagem para a redução dos impactos e biossegurança ambiental. O mecanismo proposto pode utilizar diferentes espécies indutoras e/ou reações por uso de moléculas, metais, radicais livres e outros para combinações e/ou atividade metabólica nos organismos alvos.

Os danos físicos e metabólicos produzidos *in situ* podem ser utilizados como estratégia de controle populacional de insetos vetores a partir das formas imaturas. No caso dos fenóis lipídicos a partir dos constituintes do LCCT, resíduo agroindustrial, rico em cardanol e produzido na tostagem com intensa atividade inseticida.

Neste contexto, os fenóis lipídicos do LCCT podem ser propostos como uma mistura inseticida por neutralização parcial ou total para a produção de formulações auto-emulsionáveis, ricas em fenolatos sódicos, potássicos, amínicos ou ainda com metais bioativos, i.e. íons Cu(II) e/ou outros íons metálicos que possam ser misturados ou emulsionados no LCCT como nanopartículas, micelas com distribuição variável de tamanhos e/ou distribuição de tamanhos em nano e microvesículas que possam ser estruturadas para o carregamento/veiculação dos ativos no organismo do inseto e indução dos danos físicos e/ou metabólicos por estratégias de combinações, dispersão, ancoramentos/interações e contenção dos compostos ou mistura para maior eficácia, biossegurança e/ou indução de interferências/danos no metabolismo a partir do sistema digestório dos insetos.

Os fenóis lipídicos ou combinações podem ser utilizados previamente solubilizados em solventes não aquosos e aquoso na forma

livre, parcial ou total neutralizada ou ainda com moléculas surfactantes na forma micelar como principal ativo inseticida para cumprir diferentes papéis como molécula carreadora/transportadora, emulsificante ou ainda modificado quimicamente para maior interferências em processos metabólicos, indução de danos celulares e teciduais, principalmente, no sistema digestório, de forma contínua com danos aos organismos alvos e, ocasionar sua morte por apoptose ou necrose.

Referências

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12648**. Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2022.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15088**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio em peixes. Rio de Janeiro: ABNT 2022.

ALMANZOR, B. L.; HO, H. T.; CARVAJAL, T. M. Ecdysis period and rate deviations of dengue mosquito vector, *Aedes aegypti* reared in different artificial water-holding containers. **Journal of Vector Borne Diseases**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 37-45, 2016.

ALMEIDA, D. M.; WETHINGTON, E.; KESSLER, R. C. The daily inventory of stressful events: an interview-based approach for measuring daily stressors. **Assessment**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 41-55, 2002.

AMORATI, R.; PEDULLI, G. F.; VALGIMIGLI, L.; ATTANASI, O. A.; FILIPPONE, P.; FIORUCCI, C.; SALADINO, R. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, [S. l.], v. 2, p. 2142-2146, 2001.

ANDRADE, L. R. M.; GUILGER-CASAGRANDE, M.; GERMANO-COSTA, T. Polymeric Nanorepellent Systems Containing Geraniol and Icaridin Aimed at Repelling *Aedes aegypti*. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 23, n. 15, p. 8317, 2022.

ANOOPKUMAR, A. N.; GOPINATH, C.; ANNADURAI, S.; ABDULLAH, S.; TARAFDAR, A.; HAZEENA, S. H.; RAJASEKHARAN, R.; KURIAKOSE, L. L.; ANEESH, E. M.; VANDENBERGHE, L. P. S.; DE CARVALHO, J. C.; SOCCOL, C. R.; BINOD, P.; SINDHU RAVEENDRAN, A. M. Biotechnological valorisation of cashew apple: Prospects and challenges in synthesising wide spectrum of products with market value. **Biore-source Technology Reports**, [S. l.], v. 25, p. 101742, 2024.

APHA — American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed. Washington DC: American Public Health Association, 1998.

ARA, Z. G.; HAQUE, A. R. A Comprehensive review on synthetic insecticides: toxicity to pollinators, associated risk to food security, and management approaches. **Journal of Biosystems Engineering**, [S. l.], v. 46, p. 254-272, 2021.

ARAÚJO, E. P.; CALDAS, E. D.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Relationship between pesticide standards for classification of water bodies and ecotoxicity: a case study of the Brazilian directive. **Toxics**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 767, 2022.

ARAÚJO, H. R. C.; CARVALHO, D. O.; IOSHINO, R. S.; COSTA-DA-SILVA, A. L.; CAPURRO, M. L. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. **Insects**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 576-594, 2015.

ARRUDA, E. J.; NASCIMENTO, H. S.; BARUFATTI, A.; CRISPIM, B. A.; MEREY, F. M.; PASSOS, R. A.; OLIVEIRA, K. M. P.; RECH, C. R.; MARTELLI, S. M. **Produto baseado em LCC para controle de insetos vetores, parasitas e pragas agrícolas**. 2019, Brasil. Patente: Modelo de Utilidade. Número do registro: BR1020190142260. Instituição de registro: INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito em: 09 jul. 2019.

ARRUDA, E. J.; BIASOTTO, G.; BEPPU, M. M.; MONTEIRO, F. J.; GRANJA, P. L.; RANGEL, M.; LEITE, A.; CABRINI, I.; SANTOS, T.; GONÇALVES, D. A.; NEITZKE-ABREU, H. C. Nano-encapsulated Cu (II) complex as a promising insecticidal for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Heliyon**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. e23198, 2024.

ASOGWA, E. U.; HAMMED, L. A.; NDUBUAKU, T. C. N. Integrated production and protection practices of cashew (*Anacardium occidentale*) in Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 7, n. 25, p. 4868-4873, 2008.

BJERREGAARD, P.; ANDERSEN, C. B. I.; ANDERSEN, O. Ecotoxicology of Metals—Sources, Transport, and Effects on the Ecosystem. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M. **Handbook on the Toxicology of Metals**. 4th ed. Academic Press, 2015. p. 425-459.

BRAGA, A. P. A.; SOUZA, L. R.; LIMA, M. G. F.; CRUZ, J. M.; SOUZA, A. C. Z.; COSTA, M. S.; CASTRO, V. L. S.; MARIN-MORALES, M. A. The Zebrafish as an alternative animal model for ecotoxicological research and testing. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 67, p. 1-20, 2024.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007.

BURATINI, S. V.; BERTOLLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Evaluation of daphnia similis as a test species in ecotoxicological assays. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], v. 73, n. 5, p. 878-882, 2004.

CARVALHO, G. H. F.; DE ANDRADE, M. A.; DE ARAÚJO, C. N.; SANTOS, M. L.; CHARNEAU, S.; MONNERAT, R.; DE SANTANA, J. M.; BASTOS, I. M. D. Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 26, p. 5514-5523, 2019.

CETIN, H.; YANIKOGLU, A. A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. **Journal of Vector Ecology**, [S. l.], v. 31, p. 118-122, 2006.

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 89, p. 99-102, 2003.

CHUNG, K. W. Y.; BLIN, J.; LANVIN, C.; MARTIN, E.; VALETTE, J.; DE STEENE, L. V. Pyrolysis of cashew nut shells-focus on extractives. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, [S. l.], v. 179, p. 106452, 2024.

CONWAY, M. J.; HASLITT, D. P.; SWARTS, B. M. Targeting *Aedes aegypti* metabolism with next-generation insecticides. **Viruses**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 469, 2023.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. Toxicity in aquatic environments: discussion and evaluation methods. **Química Nova**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, K. P.; DE VIVEIROS, B. M.; SCHMIDT JUNIOR, M. A. S.; SUAREZ, P. A. Z.; REZENDE, M. J. C. Chemical transformations in technical cashew nut shell liquid and isolated mixture of cardanols, evaluation of the antioxidant activity and thermal stability of the products for use in pure biodiesel. **Fuel**, [S. l.], v. 235, p. 1010-1018, 2019.

DHAR-CHOWDHURY, P.; HAQUE, C. E.; LINDSAY, R.; HOSSAIN, S. Socioeconomic and ecological factors influencing *Aedes aegypti* prevalence, abundance, and distribution in Dhaka, Bangladesh. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 94, p. 1223-1233, 2016.

DOLENGA, C. J.; ANJOS, A.; ARRUDA, E. J.; MOLENTO, M. B. Copper chloride and copper sulphate in combination with nitroxylnil against gastrointestinal nematodes of ruminants: A possible hitchhiking synergic effect at low concentrations. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 177-183, 2023.

DUARTE, J. L.; DI FILIPPO, L. D.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; SÁBIO, R. M.; MARENA, G. D.; BAUAB, T. M.; DUQUE, C.; CORBEL, V.; CHORILLI, M. Development and characterization of potential larvicidal nanoemulsions against *Aedes aegypti*. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, [S. l.], v. 15, p. 104-114, 2024.

EL RIACHY, M.; PRIEGO-CAPOTE, F.; LEÓN, L.; RALLO, L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, [S. l.], v. 113, p. 678-691, 2011a.

EL RIACHY, M.; PRIEGO-CAPOTE, F; LEÓN, L; RALLO, L; LUQUE DE CASTRO, M. D. Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 2: Biosynthesis and biotransformation of phenolic compounds in virgin olive oil as affected by agronomic and processing factors. **European Journal of Lipid Science and Technology**, [S. l.], v. 113, p. 692-707, 2011b.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilapia Culture**. CAB International: Wallingford, 2006. 277 p.

EPA – United States Environmental Protection Agency. **Causal Analysis/Diagnosis Decision Information System (CADDIS)**. Insecticides. 2024. Disponível em: <https://www.epa.gov/caddis/insecticides>. Acesso em: 21 out. 2024.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food balance sheets 2010–2022 – Global, regional and country trends**. FAOSTAT Analytical Brief Series, Rome, n. 91, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cdi656en>. Acesso em: 21 out. 2024.

FERRERO, D; MOSCATO, E; SPINA, F; CAVALLUZZI, M. M; ROTONDO, N; ODDON, S. B; GARGANO, M. L; VENTURELLA, G; LENTINI, G; BERTEA, C. M; GASCO, L; VARESE, G. C. The fungal alternative: Insights on medicinal mushrooms-based protein-rich biomasses by submerged fermentation of agro-industrial by-products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S. l.], v. 95, p. 103721, 2024.

FORD, A. T; ÅGERSTRAND, M; BROOKS, B. W; ALLEN, J; BERTRAM, M. G; BRODIN, T; DANG, Z. C; DUQUESNE, S; SAHM, R; HOFFMANN, F; HOLLERT, H; JACOB, S; KLÜVER, N; LAZORCHAK, J. M; LEDESMA, M; MELVIN, S. D; MOHR, S; PADILLA, S; PYLE, G. G; SCHOLZ, S; SAARISTO, M; SMIT, E; STEEVENS, J. A; VAN DEN BERG, S; KLOAS, W; WONG, B. B. M; ZIEGLER, M; MAACK, G. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 55, n. 9, p. 5620-5628, 2021.

GAMBARDELLA, C.; PINSINO, A. Nanomaterial ecotoxicology in the terrestrial and aquatic environment: A systematic review. **Toxics**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 393, 2022.

GARCIA-SANTOS, S.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; WILSON, J. M. Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: assessment of some ionoregulatory parameters. **Environmental Toxicology**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 33-46, 2006.

GEDAM, P. H.; SAMPATHKUMARAN, P. S. Cashew nut shell liquid: Extraction, chemistry and applications. **Progress in Organic Coatings**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 115-157, 1986.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Formulation and characterization of plant essential oil-based nanoemulsion: Evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Asian Journal of Chemistry**, [S. l.], 25 (Supplementary), p. S321-S323, 2013.

GUISSONI, A. C. P.; SILVA, I. G.; GERIS, R.; CUNHA, L. C.; SILVA, H. H. G. Atividade larvica de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 363-367, 2013.

GUZMÁN, L. E; WIJETUNGE, A. N; RISKE, B. F; MASSANI, B. B; RIEHLE, M. A; JEWETT, J. C. Chemical probes to interrogate the extreme environment of mosquito larval guts. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 146, n. 12, p. 8480, 2024.

HEIJERICK, D. G; SCHAMPHELAERE, K. A; JANSSEN, C. R. Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: possibilities and limitations. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S. l.], v. 133, n. 1-2, p. 207-218, 2002.

JORGE, M. R; DO AMARAL CRISPIM, B; MEREY, F. M; BARUFATTI, A; CABRINI, I; DA SILVA DANTAS, F. G; DE OLIVEIRA, K. M. P; KUMMROW, F; BEATRIZ, A; SANTOS, T; DIAS, C; VENTURA, J; NOGUEIRA, C. R; DA SILVA GOMES, R.; DE ARRUDA, E. J. Sulphonates' mixtures and emulsions obtained from technical cashew nut shell liquid and cardanol for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 27, p. 27870-27884, 2020.

JORGE, M. R; MEREY, F. M; CRISPIM, B. A; KUMMROW, F; BARUFATTI, A; SILVA DANTAS, F. G; OLIVEIRA, K. M. P; ARRUDA, E. J. Ecotoxicological evaluation of products obtained from technical cashew nutshell liquid (tCNSL) proposed as larvicide to control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Ecologies**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 161-174, 2022.

KALA, S; SOGAN, N; VERMA, P; NAIK, S. N; AGARWAL, A; PATANJALI, P. K; KUMAR, J. Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: Mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action. **South African Journal of Botany**, [S. l.], v. 127, p. 293-300, 2019.

KIRAN, S. R; BHAVANI, K; DEVI, P. S; RAO, B. R; REDDY, K. J. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 97, n. 18, p. 2481-2484, 2006.

KOMALAMISRA, N; TRONGTOKIT, Y; RONGSRIYAM, Y; APIWATHNASORN, C. Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 1412-1422, 2005.

KUMAR, S.; DINESHA, P.; ROSEN, M. A. Cashew nut shell liquid as a fuel for compression ignition engines: a comprehensive review. **Energy & Fuels**, [S. l.], v. 32, n. 7, p. 7237-7244, 2018.

LAUFENBERG, G; KUNZ, B; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresour Technol**, [S. l.], v. 87, n. 2, p. 167-198, 2003.

LIMA, A. R; DE ARRUDA, E. J; DE CARVALHO, C. T; DA SILVA, C. M; FERNANDES, M. F; KATO, M. F. H; CABRINI, I; ANDRADE, C. F. S. Insecticidal activity of $[Cu(H_2N-TA)_2] \cdot 2H_2O$ in *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae). **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 7, p. 369-375, 2015.

LOMONACO, D; SANTIAGO, G. M. P; FERREIRA, Y. S; ARRIAGA, A. M. C; MAZZETTO, S. E; MELE, G; VASAPOLLO, G. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chemistry**, [S. l.], v. 11, p. 31-33, 2009.

LOMONACO, D.; MELE, G.; MAZZETTO, S. E. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): from an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources. In: ANILKUMAR, P. (ed.). **Cashew Nut Shell Liquid**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 19-38.

LÖWY, I. Leaking containers: success and failure in controlling the mosquito *Aedes aegypti* in Brazil. **American Journal of Public Health**, [S. l.], v. 107, n. 4, p. 517-524, 2017.

MACHADO, M. D.; SOARES, E. V. Features of the microalga *Raphidocelis subcapitata*: physiology and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 108, n. 1, p. 219, 2024.

MATERSKA, M. Evaluation of the lipophilicity and stability of phenolic compounds in herbal extracts. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 61-69, 2010.

MATOS, J. E. X.; SILVA, F. J. A.; VIEIRA, P. B. Solventes para extração do líquido da castanha de caju (LCC) e compatibilidade ambiental. **Revista Tecnologia Fortaleza**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 101-109, 2008.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 732-741, 2009.

MESHGINFAR, N. et al. Phenolic lipids as unique bioactive compounds: a comprehensive review on their multifunctional activity toward the prevention of Alzheimer's disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 61, n. 8, p. 1394-1403, 2021.

MGAYA, J.; SHOMBE, G. B.; MASIKANE, S. C.; MLOWE, S.; MUBOFU, E. B.; REVAPRASADU, N. Cashew nut shell: a potential bio-resource for the production of bio-sourced chemicals, materials and fuels. **Green Chemistry**, [S. l.], v. 21, n. 6, p. 1186-1201, 2019.

MIKOLAJCZAK, S. N.; TAŃSKA, M.; OGRODOWSKA, D. Phenolic compounds in plant oils: a review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 113, p. 110-138, 2021.

MOHAPATRA, P.; CHANDRASEKARAN, N. Optimization and characterization of essential oils formulation for enhanced stability and drug delivery system of mefloquine. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, [S. l.], v. 15, p. 145-154, 2023.

MRÁZKOVÁ, M.; SUMCZYNSKI, D.; ORSAVOVÁ, J. Influence of storage conditions on stability of phenolic compounds and antioxidant activity values in nutraceutical mixtures with edible flowers as new dietary supplements. **Antioxidants**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. 962, 2023.

MUBOFU, E. B.; MGAYA, J. E. Chemical valorization of cashew nut shell waste. **Topics in Current Chemistry**, [S. l.], v. 376, n. 2, p. 8, 2018.

MUSTAFA, I. F.; HUSSEIN, M. Z. Synthesis and technology of nanoemulsion-based pesticide formulation. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 10, n. 8, p. 1608, 2020.

NASCIMENTO, H. dos S.; CRISPIM, B. do A.; MEREY, F. M.; KUMMROW, F.; PASSOS, R. A. dos; CARDOSO, C. A. L.; LOMONACO, D.; OLIVEIRA, K. M. P. de; DANTAS, F. G. da S.; ARRUDA, E. J. de; BARUFATTI, A. Self-emulsifiable bioactive derivatives of technical cashew nut shell liquid (TCNSL) developed to control *Aedes aegypti* populations. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], v. 13, p. 2539-2552, 2022.

NASCIMENTO, H. dos S.; LUZ, S. R. da; CRISPIM, B. do A.; LAMPUGNANI, G.; KUMMROW, F.; BARUFATTI, A. By-products of the cashew nut production chain as alternatives for the development of larvicides: a review. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 3217-3237, 2024.

NATH, U.; PUZARI, A.; JAMIR, T. Toxicological assessment of synthetic pesticides on physiology of *Phaseolus vulgaris* L. and *Pisum sativum* L. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S. l.], v. 23, n. 4, p. 300-311, 2024.

NYIRENDA, J.; ZOMBE, K.; KALABA, G.; SIABBAMBA, C.; MUKELA, I. Exhaustive valorization of cashew nut shell waste as a potential bioresource material. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 11986, 2021.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília: Embrapa, 2019.

OCDE — Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. **Test No. 203**: fish, acute toxicity test. Paris: OECD Publishing, 2019.

OCDE — Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. **Diretrizes da OCDE para Empresas Multinacionais**: edição 2011. Paris: OECD Publishing, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/39ad30ao-pt>. Acesso em: 10 jul. 2024.

OCDE — Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. **OECD Annual Report 2004**. Paris: OECD Publishing, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/annrep-2004-en>. Acesso em: 10 jul. 2024.

PASQUET, P.-L.; JULIEN-DAVID, D.; ZHAO, M.; VILLAIN-GAMBIER, M.; TREBOUET, D. Stability and preservation of phenolic compounds and related antioxidant capacity from agro-food matrix: effect of pH and atmosphere. **Food Bioscience**, [S. l.], v. 57, n. 8, p. 103586, 2024.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, [S. l.], v. 2, p. 118–127, 2007.

PENG, H.; SHAHIDI, F. Oxidation and degradation of (epi)gallocatechin gallate and (epi)catechin gallate in alkali solution. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 408, p. 134815, 2023.

PONCIO, L. de C.; ANJOS, F. A. dos; OLIVEIRA, D. A. de; ROSA, A. de O. da; SILVA, B. P.; REBECHI, D.; PEDROSA, J. M.; FRANCISCATO, D. A. da C.; SOUZA, C. de; PALDI, N. Prevention of a dengue outbreak via the large-scale deployment of sterile insect technology in a Brazilian city: a prospective study. **The Lancet Regional Health – Americas**, [S. l.], v. 21, p. 100498, 2023.

RODRIGUES, F. H. A.; FRANÇA, F. C. F.; SOUZA, J. R. R.; RICARDO, N. M. P. S.; FEITOSA, J. P. A. Comparison between physico-chemical properties of the technical cashew nut shell liquid (CNSL) and those natural extracted from solvent and pressing. **Polímeros**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 156-160, 2011.

SATYAVANI, K.; GURUDEEBAN, S.; RAMANATHAN, T.; BALASUBRAMANIAN, T. Toxicity study of silver nanoparticles synthesized from *Suaeda monoica* on Hep-2 cell line. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 35–39, jan./mar. 2012.

SHAHIDI, F.; DISSANAYAKA, C. S. Phenolic-protein interactions: insight from in silico analyses – a review. **Food Production, Processing and Nutrition**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 1-21, 2023.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 18, p. 820-897, 2015.

SILVA, J. S.; MENDES, J. S.; CORREIA, J. A. C.; ROCHA, M. V. P.; MICOLI, L. Cashew apple bagasse as new feedstock for hydrogen production using dark fermentation. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 286, p. 71-78, 2018.

SILVA, J. A.; MARTINS, M. F.; GUEDES, T. A.; COLLARES, G. L.; PRIMEL, E. G.; CORRÊA, M. G.; MARTINS, C. M. G. The use of integrative tools and multiple models for aquatic environmental quality assessment. **Environmental Monitoring and Assessment**, [S. l.], v. 196, n. 2, p. 200, 2024.

SILVA, J. G. M.; VACCHI, F. I.; UMBUZEIRO, G. de A.; OLIVEIRA, Á. C. de; OLIVEIRA, G. R. de. Miniaturização de teste agudo com microcrustáceo *Daphnia similis*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, 28., 2020. **Anais [...]**. Campinas: Unicamp, 2020. p. 1-3.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2021.

SUBBARAO, C.; KRISHNA PRASAD, K. M. M.; PRASAD, V. S. R. K. Review on applications, extraction, isolation and analysis of cashew nut shell liquid (CNSL). **Pharma Research Journal**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 21-41, 2011.

SOUZA, N. de O.; CUNHA, D. A.; RODRIGUES, N. de S.; PEREIRA, A. L.; MEDEIROS, E. J. T.; PINHEIRO, A. de A.; VASCONCELOS, M. A. de; NASCIMENTO NETO, L. G. do; BEZERRA, T. T.; MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; TEIXEIRA, E. H.; SABOIA, V. de P. A. Cashew nut shell liquids: antimicrobial compounds in prevention and control of oral biofilms. **Archives of Oral Biology**, [S. l.], v. 133, p. 105299, Jan. 2022.

TLILI, S.; MOUNEYRAC, C. New challenges of marine ecotoxicology in a global change context. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 166, p. 112242, 2021.

TORRES, R. C.; GARBO, A. G.; WALDE, R. Z. M. L. Characterization and bioassay for larvicidal activity of *Anacardium occidentale* (cashew) shell waste fractions against dengue vector *Aedes aegypti*. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 114, p. 3699-3702, 2015.

TREVISAN, M. T. S.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 188-197, 2006.

WANG, H.; XI, H.; XU, L.; JIN, M.; ZHAO, W.; LIU, H. Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal products in the water environment: A review. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 788, p. 147819, 2021.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. Geneva: World Health Organization, 2009.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **UN-water global analysis and assessment of sanitation and drinking-water (GLAAS) 2014 report**. Geneva: World Health Organization, 2014.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Integrating neglected tropical diseases into global health and development**. Geneva: World Health Organization, 2017.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Zika virus**. Geneva: World Health Organization, 2018.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue and severe dengue**. Geneva: World Health Organization, 2024.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2. ed. São Carlos: Rima, 2008.

ZARA, A. L. de S. A.; SANTOS, S. M. dos; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 391-404, jun. 2016.



SOBRE OS ORGANIZADORES

Ramão Luciano Nogueira Hayd

Possui graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura Plena e Bacharelado pela UFMS. Mestrado em Recursos Naturais pela Universidade Federal de Roraima (UFRR). Doutorado em Biologia Parasitária pela FIOCRUZ RJ. Professor Associado da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Experiência na área de Saúde Coletiva, com ênfase em Epidemiologia, atuando principalmente nos seguintes temas: Entomologia de vetores, Saúde pública, Epidemiologia, Ecologia, Monitoramento e controle de resistência do *Aedes aegypti* a inseticidas. Especialista em metodologias ativas de ensino: PBL (Problem-Based Learning) atuando desde 2004 no ensino superior. Especialista em gerenciamento na Atenção Básica de Saúde. Membro do Conselho Editorial da Editora da UFRR. Coordenador do Curso de Enfermagem da UFRR desde 2021.

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (1994 - 1998), mestrado em Biologia Parasitária pela Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (2000 - 2002) e doutorado em Genética pela Universidade de Leicester, Inglaterra (2002 - 2006). Exerceu atividades de pós-doutorado na Fundação Oswaldo Cruz (2007-2012), no Instituto Leibniz de Investigação Zoológica e Vida Selvagem (IZW Berlim/Alemanha) (2013 - 2014) e no Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS/Fiocruz) (2015). Tem experiência na área de gené-

tica, com ênfase em evolução molecular, genética de populações, especiação, ritmos biológicos de insetos e construção de bibliotecas genômicas. Atualmente, é pesquisador do Laboratório de Biologia, Controle e Vigilância de Insetos Vetores, do Instituto Oswaldo Cruz. Atua principalmente nos seguintes temas: Insetos vetores, Sequenciamento de nova geração, Estudos de Associação Genômica Ampla e Single Cell RNA seq. Integra o corpo docente do mestrado em Defesa Biológica do Instituto de Biologia do Exército.

Herintha Coeto Neitzke-Abreu

Possui graduação em Farmácia-Bioquímica (Análises Clínicas) pela Universidade Estadual de Maringá (2004), mestrado em Ciências da Saúde na área de Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Estadual de Maringá (2007), doutorado em Ciências da Saúde na área de Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Estadual de Maringá (2013) e pós-doutorado em Biociências e Fisiopatologia na área de Etiofisiopatologia de Doenças Humanas e Animais pela Universidade Estadual de Maringá (2014). Atualmente, é Professora Associada da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e docente permanente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPgCS/UFGD). É Bolsista Produtividade em Pesquisa. Tem experiência na área de Genética, Embriologia, Patologia, Parasitologia, Microbiologia, Imunologia e Entomologia, atuando principalmente nos seguintes temas: leishmanioses, imunopatogenia e diagnóstico, flebotomíneos e controle de vetores.

Eduardo José de Arruda

Engenheiro Químico-Industrial pelo Centro Universitário da FEI (FCA), São Bernardo do Campo, SP (1984), especialista em Química pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte - PUC Minas (1988), mestre em Engenharia de Processos Químicos (1995) e doutor em Engenharia de Processos Bioquímicos/Biotecnologia (1999) pela Universidade Estadual de Campinas (FEQ/UNICAMP). Realizou estágios PD/PV UFSCar-FCUP, Portugal (2019/2020-2021), UNESP/Botucatu-SP (2009/2010), UNICAMP/FEQ-DEMBio (2014), FEUP-DEMM/INEB/i3S-Porto-Portugal (2014/2015), UFSCar/Física e FCUP/Física (2019/2020). Diretor Científico da FUNDECT (triênio 2011-2013) e Bolsista Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora - DTI - 2010 / 82 - Programa de Tecnologias Médicas e da Saúde (2011-2013; 2017-2019; 2020-2023, 2023-2025). Exerceu atividades de docência e pesquisa por 23 anos na MSMT-UCDB. É professor titular na UFGD.

SOBRE OS AUTORES

CAPÍTULO 1. *Aedes Aegypti*: PRINCIPAL VETOR DAS ARBOVIROSES URBANAS NO BRASIL

Eduardo José de Arruda

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Ramão Luciano Nogueira Hayd

Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Grande Dourados

Herintha Coeto Neitzke-Abreu

Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde
Universidade Federal da Grande Dourados

Raquel da Silva Vieira

Laboratório de Análise Físico-Química de Alimentos
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Paulo Silva de Almeida

Laboratório Regional de Entomologia de Dourados
Núcleo Regional de Saúde / Secretaria de Saúde - Estado de Mato Grosso do Sul

Luiz Donizethe Minzão

Secretaria Municipal de Educação
Prefeitura Municipal de Corumbá - Estado de Mato Grosso do Sul

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Laboratório de Biologia, Controle e Vigilância de Insetos Vetores
Instituto Oswaldo Cruz
Instituto de Biologia do Exército

Antonio Pancrácio de Souza

Laboratório de Educação em Saúde
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

**CAPÍTULO 2. ASPECTO DA BIOLOGIA DAS FORMAS
IMATURAS DO *Aedes* spp.: OVOS**

Eduardo José de Arruda

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Glenda Biasotto Porzani

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Raphael Antônio Borges Gomes

Laboratório de Bromatologia I
Universidade Federal de Ouro Preto

Antonio Pancrácio de Souza

Laboratório de Educação em Saúde
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

**CAPÍTULO 3. PRODUTOS E ESTRATÉGIAS DE
CONTROLE POPULACIONAL DE INSETOS VETORES**

Eduardo José de Arruda

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Glenda Biasotto Porzani

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Delfin Sánchez Sánchez

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Bruna Fernanda Rodrigues Martins

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Aujenus Albert Msumange

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Janaine Alberto Marangoni Faoro

Grupo de estudos de fitoquímica e atividades biológicas
Universidade Federal da Grande Dourados

Anelise Samara Nazari Formagio

Grupo de estudos de fitoquímica e atividades biológicas
Universidade Federal da Grande Dourados

**CAPÍTULO 4. RESISTÊNCIA DO *Aedes Aegypti* A
INSETICIDAS**

Ramão Luciano Nogueira Hayd

Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Grande Dourados

Jaime Louzada

Laboratório de Pesquisa Saúde e Fronteira
Universidade Federal de Roraima

CAPÍTULO 5. POTENCIAL DE ÓLEOS DE PALMEIRAS NATIVAS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA E DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS SOCIAIS NO CONTROLE DE *Aedes Aegypti*

Roberto da Silva Cardoso

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Federal do Amapá

Arlefe Noite Ribeiro

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Federal do Amapá

Mateus de Jesus Silva Matos

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Estadual do Amapá

Victor Hugo de Souza Marinho

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Federal do Amapá

Inana Fauro de Araújo

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Federal do Amapá

Irlon Maciel Ferreira

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada
Universidade Federal do Amapá

CAPÍTULO 6. O RELÓGIO CIRCADIANO DE *Aedes Aegypti*

Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Laboratório de Biologia, Controle e Vigilância de Insetos Vetores
Instituto Oswaldo Cruz
Instituto de Biologia do Exército

Jéssica Rodrigues Assunção Bezerra

Laboratório de Biologia Molecular de Insetos
Instituto Oswaldo Cruz

Lucas de Oliveira de Alcantara

Laboratório de Biologia Molecular de Insetos
Instituto Oswaldo Cruz

Rafaela Vieira Bruno

Laboratório de Biologia Molecular de Insetos
Instituto Oswaldo Cruz

CAPÍTULO 7. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS: ATIVIDADE INSETICIDA DE FENÓIS LIPÍDICOS (LCCT)

Eduardo José de Arruda

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Glenda Biasotto Porzani

Núcleo de Desenvolvimento de Tecnologias / Ensaios de Toxicidade
Universidade Federal da Grande Dourados

Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira

Química Orgânica e Inorgânica
Universidade Federal do Ceará

Derisvaldo Rosa Paiva

Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca
– Câmpus Angra dos Reis

Marcelo Mota Reginato

Instituto de Química
Universidade de São Paulo

Rosângela Assis Jacques

Instituto de Química
Universidade Federal do Rio Grande do Sul