

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

FERNANDA BATISTA SANTOS

**Toxicidade do óleo essencial de *Citrus sinensis* sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:
Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil**

Diamantina

2023

FERNANDA BATISTA SANTOS

Toxicidade do óleo essencial de *Citrus sinensis* sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Ricardo Andrade Barata

Diamantina

2023

Catálogo na fonte - Sisbi/UFVJM

S237t Santos, Fernanda Batista
2023 Toxicidade do óleo essencial de Citrus sinensis sobre Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil [manuscrito] / Fernanda Batista Santos. -- Diamantina, 2023.
52 p. : il.

Orientador: Prof. Ricardo Andrade Barata.

Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) -- Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Diamantina, 2023.

1. Leishmaniose Visceral. 2. Controle de vetores. 3. Flebotomíneos. 4. Citrus sinensis. 5. óleo essencial. I. Barata, Ricardo Andrade. II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Este produto é resultado do trabalho conjunto entre o bibliotecário Rodrigo Martins Cruz/CRB6-2886 e a equipe do setor Portal/Diretoria de Comunicação Social da UFRJ

FERNANDA BATISTA SANTOS

TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* SOBRE *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE), VETOR DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO BRASIL

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL,
(nível: MESTRADO) como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MESTRA EM BIOLOGIA ANIMAL

Orientador: Prof. Dr. Ricardo
Andrade Barata

Data da aprovação: 21/08/2023


Prof. Dr. RICARDO ANDRADE BARATA - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO ANDRADE BARATA**
Data: 25/09/2023 14:32:19-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr.^a KELLY CRISTINA KATO - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 **KELLY CRISTINA KATO**
Data: 21/09/2023 23:05:42-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr.^a ROQUELINE RODRIGUES SILVA - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 **ROQUELINE RODRIGUES SILVA**
Data: 25/09/2023 12:58:37-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

DIAMANTINA

Dedico este trabalho à minha mãe, Rita Batista de Brito Leste e a todos que de alguma forma, contribuíram para a conclusão do estudo.

AGRADECIMENTOS

À minha querida mãe, Rita, desejo expressar minha profunda gratidão por todo o inestimável incentivo, pela crença constante em minhas capacidades e por proporcionar, do seu jeitinho, apoio e segurança, sobretudo nos momentos de incerteza e dúvida que enfrentei. Seu amor e apoio incondicionais foram fundamentais para o meu crescimento e fortalecimento ao longo desta jornada;

À minha madrinha, Aparecida, agradeço por todos os conselhos e palavras edificantes que, em cada conversa, você soube me transmitir com tanto amor e carinho;

À minha irmã, Camila, agradeço por todo o carinho, motivação e por ter revisado minuciosamente este trabalho, proporcionando valiosas contribuições;

À minha irmã, Daniela, gratidão pelas instrutivas conversas acerca das importâncias dos óleos essenciais e pelas valiosas contribuições oferecidas a este trabalho;

Ao meu noivo, Lucas, sou grata pelo apoio inabalável e compreensão durante toda esta trajetória. Você acalmou minhas ansiedades e me encorajou a seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores, tornando esta jornada mais leve;

Ao meu orientador, Professor Dr. Ricardo Andrade Barata, desejo expressar minha profunda gratidão por ter me acolhido com tamanha gentileza no LAPAR desde o início da minha graduação. Sua dedicação, paciência e respeito foram pilares essenciais para o meu desenvolvimento intelectual e pessoal. Agradeço sinceramente por depositar confiança em meu trabalho e capacidade, e, acima de tudo, por iluminar meu caminho em direção ao contínuo aprimoramento;

À Sâmia, minha colega de laboratório e parceira nas disciplinas do mestrado, agradeço pelos momentos de descontração, pelas boas conversas e pela valiosa troca de conhecimentos, por toda a amizade e colaboração;

Ao Professor Dr. Thiago Santos, pela disponibilidade e prestatividade para a realização da análise estatística. Além da paciência e carinho para ensinar a fazer todas as análises necessárias;

Ao técnico do LAPAR, Daniel J. Silva Viana, pela ajuda no preparo dos testes biológicos;

Ao técnico Abraão J. S. Viana do LIPEM Vale, pelo auxílio na extração do óleo essencial;

À Professora Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa e sua orientanda Débora Machado de Lima da UFU pela parceria e realização da análise cromatográfica.

Aos membros da banca pela participação e sugestões para enriquecimento do trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal – PPGBA e seus integrantes, professores e colegas;

À Prefeitura Municipal de Diamantina, em especial ao setor de Zoonoses, pela colaboração durante as coletas dos flebotomíneos;

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri pela infraestrutura;

À CAPES pela bolsa concedida;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos os amigos, familiares e professores que, direta ou indiretamente, colaboraram para o sucesso desta dissertação, minha gratidão sincera.

“Educação não transforma o mundo. Educação muda pessoas. Pessoas transformam o mundo” (Paulo Freire)

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença de caráter reemergente, com ampla distribuição geográfica e alta letalidade, quando não tratada. É transmitida principalmente pela picada do flebotomíneo fêmea da espécie *Lutzomyia longipalpis*. O controle recomendado direcionado ao vetor é a aplicação de inseticida piretróide residual nos domicílios e anexos. Entretanto, tem sido observado o surgimento de populações resistentes aos inseticidas convencionais, o que tem fomentado a busca por novos compostos. O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial tóxico do óleo essencial de *Citrus sinensis* (laranja-pêra-rio) sobre flebotomíneos selvagens da espécie *Lutzomyia longipalpis*. Para obtenção do óleo essencial, foram adquiridas 10 laranjas pêra-rio no comércio local do município de Diamantina-MG. O método utilizado foi a hidrodestilação com auxílio do aparelho de Clevenger. Para o bioensaio, o óleo essencial foi diluído em solução de polisorbato 80 (Tween®) a 3%, obtendo-se as concentrações de 100mg/mL, 200mg/mL e 400mg/mL. Foram usados como grupos controles: água destilada e Tween® a 3% (negativos) e cipermetrina 196µg/mL como controle positivo. Flebotomíneos foram capturados em área rural do município com auxílio de armadilhas luminosas tipo HP para serem utilizados nos testes de toxicidade. Dez exemplares foram transferidos para potes plásticos de 250mL cobertos por tecidos de organza. Na parte superior do pote (tampa) e na inferior (fundo) foram inseridos papel de filtro embebido por 250µL do óleo essencial. A taxa de mortalidade foi acompanhada por 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 20h, 24h, 48h e 72h após a exposição. Os dados foram analisados usando a incidência de morte por tempo avaliado entre as amostras. A análise estatística foi feita usando o Modelo de tempo de falha acelerado, com ajuste de curva Lognormal ($\Delta AICc = 0$). A caracterização detalhada do óleo essencial foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. O óleo essencial de *C. sinensis* foi tóxico para os flebotomíneos *Lu. longipalpis* em todas as concentrações testadas. A taxa de sobrevivência diminuiu com o aumento da concentração: 18% em 100mg/mL, 11% em 200mg/mL e 2% em 400mg/mL. A taxa de mortalidade foi significativamente maior na concentração de 400mg/mL em comparação com a água. O diluente Tween® não afetou a ação do óleo essencial, enquanto a cipermetrina 196µg/mL resultou em alta mortalidade. A DL(50) foi de 152,28 +- 52,102. Por cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas foram identificados nove componentes na amostra do OE de *Citrus sinensis*, sendo maioria monoterpenos e o constituinte majoritário o *d*-limoneno, com 95,11% da composição. Os resultados obtidos mostraram que o óleo essencial de cascas de laranja possui potencial tóxico sobre *Lu. longipalpis*. A presença de componentes como os terpenos em sua constituição, com conhecido poder inseticida, pode subsidiar o

desenvolvimento de um produto eficiente e menos tóxico que ajude no controle destes vetores.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, Controle de vetores, Flebotomíneos, *Citrus sinensis*, óleo essencial.

ABSTRACT

Toxicity of *Citrus sinensis* essential oil on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vector of visceral leishmaniasis in Brazil

Visceral leishmaniasis (VL) is a reemerging disease, with wide geographical distribution and high lethality when left untreated. It is mainly transmitted by the bite of the female sand fly of the species *Lutzomyia longipalpis*. The recommended vector-directed control is the application of residual pyrethroid insecticide in homes and outbuildings. However, the emergence of populations resistant to conventional insecticides has been observed, which has encouraged the search for new compounds. The objective of this work was to investigate the toxic potential of the essential oil of *Citrus sinensis* (sweet orange) on wild sandflies of the *Lu. longipalpis* species. To obtain the essential oil, 10 sweet oranges were purchased from local businesses in the municipality of Diamantina-MG. The method used was hydrodistillation using the Clevenger apparatus. For the bioassay, the essential oil was diluted in a 3% solution of polysorbate 80 (Tween®), obtaining concentrations of 100mg/mL, 200mg/mL and 400mg/mL. The following groups were used as controls: distilled water and Tween® 3% (negative) and cypermethrin 196µg/mL as a positive control. Sand flies were captured in a rural area of the municipality with HP light traps to be used in toxicity tests. Ten specimens were transferred to 250mL plastic pots covered with organza fabrics. In the upper part of the pot (lid) and in the lower part (bottom) filter paper soaked in 250µL of essential oil was inserted. The mortality rate was followed for 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 20h, 24h, 48h and 72h after exposure. Data were analyzed using the incidence of death by time assessed between samples. Statistical analysis was performed using the Accelerated Failure Time Model with Lognormal curve fitting ($\Delta AICc = 0$). The detailed characterization of the essential oil was performed by gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The essential oil of *C. sinensis* was toxic to sandflies *Lu. longipalpis* in all tested concentrations. The survival rate decreased with increasing concentration: 18% at 100mg/mL, 11% at 200mg/mL and 2% at 400mg/mL. The mortality rate was significantly higher at the 400mg/mL concentration compared to the water. Tween® diluent did not affect the action of the essential oil, while cypermethrin 196µg/mL resulted in high mortality. The LD(50) was 152.28 ± 52.102. By gas chromatography coupled to a mass spectrometer, nine components were identified in the *Citrus sinensis* EO sample, mostly monoterpenes and *d*-limonene as the major constituent, with 95.11% of the composition. The results obtained showed that the essential oil of Sweet orange has toxic potential on *Lu. longipalpis*. The presence of components such as terpenes in

its constitution, with known insecticidal power, can subsidize the development of an efficient and less toxic product that helps in the control of these vectors.

Keywords: Visceral Leishmaniasis, Vector control, Phlebotomines, *Citrus sinensis*, Essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Dimorfismo sexual em flebotomíneos adultos | 15 |
| Figura 2 - Estrutura química da α -cipermetrina. | 17 |
| Figura 3 - Morfologia da laranja <i>Citrus sinensis</i> | 20 |
| Figura 4 - Processos de extração do óleo essencial..... | 25 |
| Figura 5 - Geolocalização do município de Diamantina..... | 27 |
| Figura 6 - Procedimentos para o teste biológico. | 28 |
| Figura 7 - Teste de toxicidade | 28 |
| Figura 8- Gráfico da porcentagem média de morte dos flebotomíneos em relação ao tempo. | 31 |
| Figura 9 - Gráfico da taxa de sobrevivência dos flebotomíneos em relação aos tratamentos.. | 32 |
| Figura 10 - Perfil cromatográfico (CG-MS) | 33 |
| Figura 11- Estrutura química dos compostos identificados no óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> | 34 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1- Comparação de modelos estatísticos utilizando o critério de informação de Akaike (AIC) | 29 |
| Tabela 2 - Resultado do teste de toxicidade do óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> aos flebotomíneos utilizando o Modelo de tempo de falha acelerado, com ajuste de curva lognormal ($\Delta AICc = 0$) em comparação com água..... | 30 |
| Tabela 3 - Compostos identificados por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa no óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> | 33 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Le: *Leishmania*

Lu: *Lutzomyia*

LV: leishmaniose visceral

Na₂SO₄: Sulfato de sódio anidro

OE: Óleo essencial

UFVJM: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

α : Alfa

β : Beta

δ : Delta

mg.i.a./m²: Miligrama de ingrediente ativo por metro²

μ L: Microlitro

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 Leishmaniose visceral | 13 |
| 1.2 Bioecologia dos flebotomíneos | 14 |
| 1.3 Controle da leishmaniose visceral | 16 |
| 1.4 Óleos essenciais..... | 18 |
| 1.5 <i>Citrus sinensis</i> | 19 |
| OBJETIVOS..... | 22 |
| 2.1 Geral:..... | 22 |
| 2.2 Específicos: | 22 |
| JUSTIFICATIVA..... | 23 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 4.1 Material vegetal..... | 24 |
| 4.2 Extração do óleo essencial | 24 |
| 4.3 Rendimento da extração | 26 |
| 4.4 Cromatografia gasosa | 26 |
| 4.5 Coletas entomológicas..... | 26 |
| 4.6 Bioensaio com flebotomíneos | 27 |
| 4.7 Análises estatísticas | 29 |
| RESULTADOS | 30 |
| 5.1 Toxicidade sobre <i>Lutzomyia longipalpis</i> | 30 |
| 5.2 Rendimento do óleo essencial | 32 |
| 5.3 Identificação por cromatografia gasosa..... | 33 |
| DISCUSSÃO..... | 35 |
| CONCLUSÕES..... | 40 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 40 |
| FONTE DOS RECURSOS | 41 |
| REFERÊNCIAS | 42 |

INTRODUÇÃO

1.1 Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose parasitária negligenciada com ampla distribuição geográfica mundial, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e Américas. No Novo Mundo, a doença é descrita desde o México até o norte da Argentina, atingindo ainda a Guatemala, Honduras, Nicarágua, Colômbia, Venezuela, Paraguai e Brasil (ALVAR *et al.*, 2012). Mesmo com a subnotificação, aproximadamente 90% dos casos humanos de LV são registrados no Brasil, com distribuição nas cinco regiões e em 26 das 27 unidades da federação (BRASIL, 2014; AZEVEDO *et al.*, 2021).

As alterações ambientais ocasionadas pelo homem, como o processo de desmatamento, queimadas, o crescimento desordenado das cidades aliado à falta de saneamento básico, (FERREIRA *et al.*, 2021) a migração de pessoas para a periferia de centros urbanos, a presença constante de animais domésticos e de vetores, são fatores que contribuem para a urbanização e expansão geográfica da LV no Brasil (TAUIL, 2006; ABRANTES *et al.*, 2018; BATISTA-SANTOS *et al.*, 2021).

Nas Américas, o agente etiológico da LV é o protozoário *Leishmania infantum chagasi*, responsável pela infecção em humanos e cães. Apresenta ciclo de vida heteroxeno, exibindo duas formas biológicas distintas, amastigota, intracelular obrigatório, que parasita preferencialmente os macrófagos dos seus hospedeiros vertebrados e a forma móvel e flagelada denominada de promastigota, fase que sobrevive no meio extracelular do seu hospedeiro invertebrado, o flebotomíneo (AKHOUNDI *et al.*, 2016; RODRIGUES & PAPA, 2020; CECÍLIO *et al.*, 2022; YADAV *et al.*, 2023).

A LV apresenta um caráter socioeconômico, principalmente de países emergentes, relacionado às condições sanitárias inadequadas, acúmulo de matéria orgânica no peridomicílio e criação de animais próximo às residências, que favorecem a proliferação do vetor e seu contato com o ser humano (OLIVEIRA & MACIEL *et al.*, 2003; BRUSTOLONI *et al.*, 2013).

1.2 Bioecologia dos flebotomíneos

Os flebotomíneos são holometábolos, apresentam metamorfose completa, o ciclo de vida compreende os estágios de ovo, larva (4 estádios), pupa e adultos, sendo completo em período de 30 a 100 dias, de acordo com a espécie e as condições ambientais presentes no criadouro (MARCONDES, 2011; ANDRADE & SERPA-FILHO, 2021).

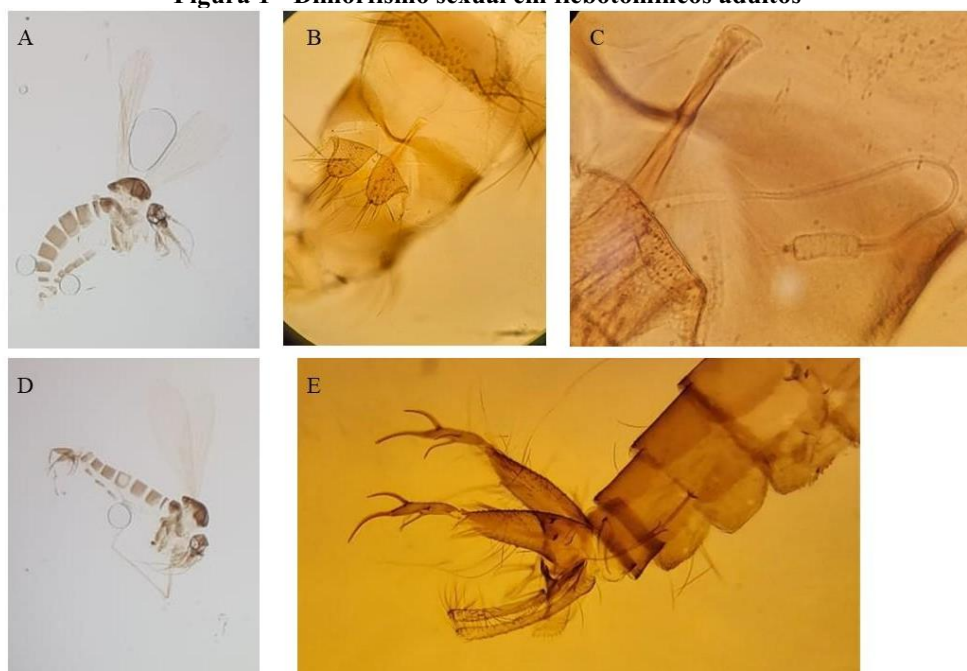
A postura dos ovos é feita diretamente no solo úmido, sombreado e rico em matéria orgânica em decomposição. A coloração é variada, propende a tonalidades escuras 24h após a oviposição. A eclosão ocorre de 7 a 17 dias após a postura, em que as condições ambientais se mantenham favoráveis (ALMEIDA *et al.*, 2010; ANDRADE & SERPA-FILHO, 2021).

As larvas são vermiformes, alongadas e achatadas dorso-ventralmente, alimentam-se de matéria orgânica em decomposição e migram para locais menos úmidos a fim de se fixarem no substrato pela extremidade posterior. A emergência dos adultos de 7 a 12 dias, com os machos geralmente emergindo primeiro que as fêmeas (RANGEL & LAINSON, 2003; ANDRADE & SERPA-FILHO, 2021).

Os adultos têm tamanho diminuto, variando de 2 a 4 milímetros, os eixos da cabeça e do abdômen formam um ângulo de aproximadamente 90° entre si (figura 1). Apresentam o corpo densamente revestido por cerdas e escamas, dando-lhes um aspecto piloso. A coloração varia de amarelo a marrom escuro (ALMEIDA *et al.*, 2010). As asas são estreitas, em formato lanceolado, com as veias transversais restritas à metade basal da asa, quando em repouso permanecem eretas, apresentam voo saltitante e silencioso, deslocando apenas algumas dezenas de metros, as pernas são longas e finas. Devido a essas características, os flebotomíneos são popularmente conhecidos no Brasil por: mosquito-palha, cangalhinha, arrepiado, asa dura, asa-da-palha, além de outros nomes como: flebótomo, birigui, orelha-de-veado e tatuíra, como demonstrado na figura 1 (MARCONDES, 2011; SILVA *et al.*, 2014).

Há dimorfismo sexual, distinguem-se facilmente pela conformação dos apêndices genitais, na extremidade do abdômen das fêmeas há dois lóbulos. Em seu interior, há um par de espermatecas, dutos individuais e duto comum, em que suas morfologias e dimensões são muito variáveis e importantes para a identificação específica. Enquanto os machos apresentam, na extremidade posterior, terminália constituída de apêndices em forma de ganchos, um aparelho de preensão que mostra, de cada lado, uma pinça dorsal biarticulada, outra peça ventral curvada para cima e uma intermediária simples ou ramificada, como demonstrado na figura 1 (RANGEL & LAINSON, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Figura 1 - Dimorfismo sexual em flebotomíneos adultos



Legenda: A - Fêmea adulta de *Lutzomyia* sp. (4x); B - Extremidade do abdôme da fêmea adulta de *Lutzomyia longipalpis* (10x); C - Espermoteca de *Lutzomyia longipalpis* (40x); D - Macho adulto de *Lutzomyia* sp. (4x); E - Terminália de *Lutzomyia longipalpis* (10x).

Fonte: Autor.

Tanto os machos quanto as fêmeas obtêm energia através de carboidratos das seivas de plantas, secreções açucaradas, néctar de flores e frutos (ALEXANDER *et al.*, 1994; CAMERON *et al.*, 1995). Entretanto as fêmeas necessitam da alimentação sanguínea para fazer a maturação dos ovos, portanto somente as fêmeas são hematófagas obrigatórias, sugando uma gama de animais vertebrados, como os mamíferos, aves, répteis e anfíbios, apresentando considerável importância epidemiológica (DIAS *et al.*, 2003; BARATA *et al.*, 2005; OLIVEIRA-PEREIRA *et al.*, 2008). As fêmeas apresentam preferências de hospedeiros, mas costumam ser oportunistas. Em geral, alimentam-se à noite ou no crepúsculo. A sucção de sangue dura poucos minutos e frequentemente causa dor (SILVA *et al.*, 2014; ANDRADE & SERPA-FILHO, 2021).

Os flebotomíneos são dípteros, pertencentes à classe Insecta, família Psychodidae, sendo a subfamília Phlebotominae a única de importância médica nas Américas. No Brasil, a espécie *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) é a principal vetora de *Leishmania infantum chagasi* (FRÓES *et al.*, 1935).

Lutzomyia longipalpis inicialmente colonizava o ambiente rural, mas ao longo do tempo, próximo ao final da década de 1980, já era possível fazer sua captura no ambiente

urbano, instalando-se principalmente na periferia das cidades, sendo encontrada no intradomicílio e peridomicílio (RANGEL & VILELA, 2008). Os aspectos comportamentais desta espécie foram fundamentais para a urbanização da LV, principalmente devido aos seus hábitos ecléticos de alimentação e fácil adaptação ao ambiente doméstico (MISSAWA *et al.*, 2008; PAIVA, 2009; DE SOUSA *et al.*, 2021).

Dessa forma, a transmissão do protozoário ocorre através da picada do flebotomíneo fêmea da espécie *Lutzomyia longipalpis*, que ao realizar o repasto sanguíneo, transfere os protozoários de um animal ao outro inclusive ao humano. De maneira que não ocorre transmissão do parasito de hospedeiro vertebrado para hospedeiro vertebrado, significando que o flebotomíneo é essencial para o ciclo da doença e por isso é considerado um vetor (SILVA, FREITAS, FRANCO, 2007; MICHALSKY *et al.*, 2011; MARCONDES & ROSSI, 2013).

Nas áreas urbanas, a presença das fêmeas de *Lu. longipalpis* é mais evidente em galinheiros, ambientes normalmente próximos às residências e que podem não ser borrifados comumente com os inseticidas, e esta continua sendo a principal medida de controle da LV (RANGEL & LAINSON, 2003; BRAZIL, 2013).

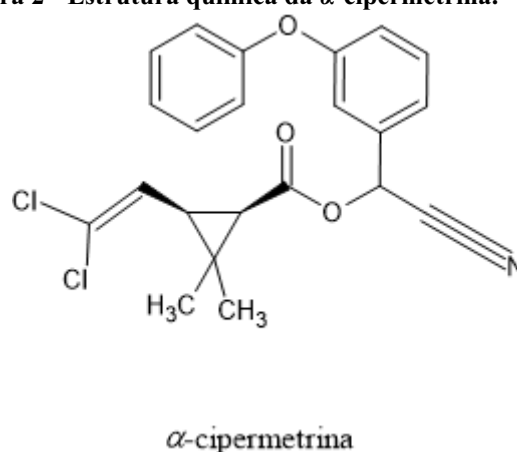
1.3 Controle da leishmaniose visceral

No Brasil, o uso de inseticidas químicos organoclorados foi muito assíduo entre as décadas de 1940 e 1980 (FLORES *et al.*, 2004), principalmente dos hexaclorobenzenos (BHC) e o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (VAN DEN BERG, 2011), sendo usados na agricultura e em pulverização interna para controle de vetores de malária e leishmaniose visceral (GARCÍA GUZMÁN & NÁJERA-MORRONGO, 1973; MOREIRA & MANSUR, 2012).

Entretanto, esses compostos caracterizam-se pela alta toxicidade, persistência no meio ambiente e demonstram significativa bioacumulação (COHN *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2009). O DDT pode ser tóxico tanto por inalação quanto por ingestão de alimentos (TURUSOV, RAKITSKY, TOMATIS, 2002) uma vez que é lipossolúvel, se acumula facilmente no tecido adiposo e por consequência, é repassado de forma eficiente para toda a cadeia alimentar (FLORES *et al.*, 2004). Além de que a falta de equipamentos de proteção individual (EPI), aliado ao manuseio incorreto dos produtos aumentam os riscos de intoxicação (BARQUERO & NIELSEN, 1987; BRILHANTE & FRANCO, 2007; JACOBI *et al.*, 2016).

Com a descoberta da toxicidade destes compostos ao ser humano e ao meio ambiente, o uso deles foi banido em vários países (SOLIVO, 2022). Em decorrência da proibição do uso dos organoclorados em programas de agricultura e controle de vetores, nos anos 80 os inseticidas piretróides surgiram como uma alternativa, visto que apresentam baixa toxicidade para os mamíferos, não acumulam nos tecidos adiposos e não são persistentes no ambiente (SANTOS, AREAS, REYES, 2008). No Brasil, os piretróides vêm sendo os principais inseticidas utilizados em aplicações domiciliares para o controle de *Lutzomyia longipalpis* (PESSOA *et al.*, 2015). Os mais usuais dos últimos 30 anos foram a α -cipermetrina, na formulação pó molhável (dose 125mg.i.a./m²) e a deltametrina (dose 25mg. i.a./m²). No ano de 2004, a α -cipermetrina foi introduzida no controle de flebotomíneos (DE SILANS, 2005).

Figura 2 - Estrutura química da α -cipermetrina.



O controle vetorial é de extrema importância para diminuir a incidência da doença. A eliminação de possíveis focos de proliferação é fundamental e deve ser feita por meio do manejo ambiental, com a limpeza de terrenos e abrigos de animais domésticos, a destinação adequada dos materiais orgânicos, além da aplicação de inseticidas de ação residual no ambiente intra e peridomiciliar (BRASIL, 2014). A manutenção do controle vetorial associado aos componentes do controle integrado são a garantia da eficácia a longo prazo (COSTA, TAPETY, WERNECK, 2007; CIARAVOLO *et al.*, 2015; ROMERO, 2016).

No estudo realizado em Minas Gerais por Barata *et al.* (2011), os autores demonstraram a eficácia da borrifação com α -cipermetrina no ambiente intradomiciliar e peridomiciliar, promovendo a diminuição da densidade de flebotomíneos por dois a quatro meses após a aplicação. Todavia, o uso indiscriminado desses inseticidas tem contribuído para a resistência dos flebotomíneos a produtos convencionais (GUEDES *et al.*, 1995; GUARDA *et al.*, 2016).

Esses fatos impulsionaram numerosos estudos para se obter uma melhor compreensão sobre o grau de susceptibilidade dos vetores aos inseticidas (DE CASTRO COITINHO *et al.*,

2006; BARBOSA; DA SILVA; CARVALHO, 2006), principalmente porque a resistência favorece a recorrência da transmissão de várias doenças (ALEXANDER *et al.*, 2009). Outro fator que tem contribuído para a resistência dos flebotomíneos é a sobreposição espacial de outras doenças vetoriais, como dengue, malária e chagas, em que o seu controle também é feito por inseticidas (CRUZ, 2021). De forma que a exposição contínua do vetor aos inseticidas comerciais propicia uma tolerância do inseto a uma substância que antes era tóxica a ele, até posteriormente o produto não desenvolver efeito no organismo (DIOTAIUTI *et al.*, 1995; LOIOLA, SILVA, TAUIL, 2002; SILVEIRA & DIAS, 2011; NETO, NASCIMENTO, DE SOUSA, 2016).

Portanto, considerando a resistência adquirida, a poluição ambiental, os danos causados à saúde humana devido à intoxicação e manuseio dos compostos e o desenvolvimento ou reformulação de moléculas químicas serem de alto custo, é indubitável a necessidade da utilização de novos produtos como os inseticidas e repelentes de origem vegetal. Dessa forma, é possível aumentar a quantidade de inseticidas alternativos eficazes ao combate dos flebotomíneos, que sejam seguros e menos danosos para o meio ambiente e demais organismos (MACIEL *et al.*, 2010a; SANTOS, 2018; SINCURÁ, 2018; ROSA, 2020).

1.4 Óleos essenciais

O metabolismo é constituído por reações químicas que os seres vivos realizam para sintetizar ou degradar substâncias complexas a partir de outras mais simples (LECOURT *et al.*, 2023). As plantas, além do metabolismo primário, responsável pela síntese de substâncias importantes para a realização das funções vitais, também têm o metabolismo secundário, formando vários compostos orgânicos que apresentam substâncias bioativas com funções ecológicas (GARCIA & CARRIL, 2011). A utilização de metabólitos secundários tem sido amplamente relatada no emprego em medicamentos, perfumes, corantes, repelentes, inseticidas, herbicidas, entre outros (PAVELA *et al.*, 2023).

Os metabólitos secundários (MS) podem apresentar diferentes classes, como alcaloides, cumarinas, flavonóides, glicosídeos, quinonas, saponinas, taninos, terpenos, dentre outros. A função dos óleos essenciais nas plantas pode ser tanto para atrair polinizadores quanto para repelir insetos. Uma vez que a síntese dos MS está diretamente relacionada com a relação da planta com o ambiente, para uma mesma espécie de planta, o número de compostos, sua quantidade relativa e o rendimento de óleos essenciais podem variar consideravelmente, devido à relação com os fatores climáticos, fertilização, irrigação, fase de

desenvolvimento da planta ou fruto na data da colheita, além do método de extração executado (DE MORAIS, 2009; HOSSAIN *et al.*, 2022; FERREIRA *et al.*, 2022).

1.4.1 Processo de extração dos óleos essenciais

Há inúmeros métodos de extração para a obtenção de óleos essenciais, os mais utilizados são: extração por solventes orgânicos, extração por fluido supercrítico, prensagem a frio, destilação por arraste de vapor e hidrodestilação (BIASI & DESCHAMPS, 2009; VÁZQUEZ-AGUILAR *et al.*, 2023).

Dentre as técnicas citadas, destacam-se a hidrodestilação, pela simplicidade e baixo custo empregado para sua utilização (BUSATO, 2014). No aparelho Clevenger, o material vegetal está diretamente em contato com a água em ebulição, o vapor gerado promove a abertura das paredes celulares proporcionando a evaporação do óleo que está entre as células da planta. O vapor desse hidrolato formado, passa por um condensador, onde ocorre seu resfriamento e, como os componentes voláteis e a água são imiscíveis, ocorre a formação de duas fases líquidas que podem ser separadas posteriormente (SATOR, 2009; AYUB *et al.*, 2023).

1.5 *Citrus sinensis*

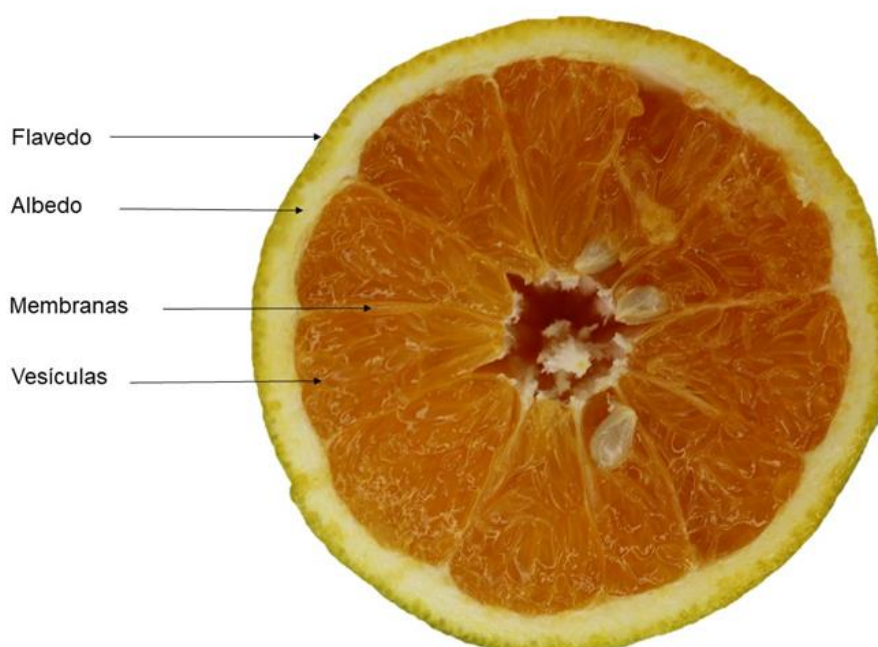
O Brasil possui uma biodiversidade imensurável, permitindo a busca de novos compostos (JHEMES *et al.*, 2017; FELIPE *et al.*, 2017), com ênfase para os produtos naturais, principalmente os óleos essenciais, uma vez que conferem às plantas seus aromas específicos e ainda atuam no sistema de defesa (MORAIS, 2009; BUBLITZ *et al.*, 2013). Os óleos essenciais e extratos vegetais podem ser obtidos facilmente de sementes, folhas, flores, raízes, cascas de árvores e cascas de frutos (MACIEL *et al.*, 2010b). Aliado a essa rica flora, o Brasil se destaca na agricultura, em especial na citricultura, em que o país detém 53% da produção global de laranjas, sendo destaque entre os maiores produtores e exportadores de laranjas do mundo (BOFF *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2017). Dado que 70% da produção brasileira é destinada exclusivamente à produção de suco, há grande quantidade de subprodutos que podem ser utilizados como fonte para bioconversões a compostos de alto valor comercial (MARÓSTICA JÚNIOR & PASTORE, 2007).

Pertencente à família Rutaceae, o gênero *Citrus* é um dos mais importantes e seu óleo essencial é muito utilizado para alimentos, cosméticos e medicamentos (RIBEIRO & LIMA, 2012; BORTOLUZZI, SCHMITT, MAZUR, 2020). Há também espécies pertencentes a esse

gênero que são de importância médica, com ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e inseticida (HAAG, LINDSTROM, GOULD, 1992; MOTA, 2019).

A laranja *Citrus sinensis* é composta pelo flavedo (epicarpo), que é a parte mais externa com coloração, assim como pela parte de cor branca, denominada de albedo (mesocarpo), além da parte mais interna composta de gomos, onde há vesículas de suco, separadas por membranas, conforme evidenciado na figura 3 (DOMINGUES *et al.*, 2021; BELLUCO *et al.*, 2022).

Figura 3 - Morfologia da laranja *Citrus sinensis*



Fonte: Autor.

Os óleos essenciais cítricos são encontrados naturalmente nas glândulas localizadas na superfície do flavedo de frutas como a laranja, limão, tangerina e toranja (CIRIMINNA *et al.*, 2014). Essas frutas possuem alta concentração de óleo essencial e podem ser extraídos por diferentes métodos, como por exemplo, a hidrodestilação, destilação por arraste a vapor e extração por solvente (BICAS, DIONISIO, PASTORE, 2009).

Diversas pesquisas têm demonstrado a viabilidade do uso de óleos essenciais e extratos vegetais, (RODRIGUES *et al.*, 2021; DE OLIVEIRA & RODRIGUES, 2021; SOUZA, 2021) uma vez que as plantas, coevoluem com insetos predadores e outros

microrganismos, produzem e acumulam metabólitos secundários para se proteger de ataques patogênicos, se tornando fontes naturais de substâncias inseticidas (SIMAS *et al.*, 2017).

Essas podem causar variados efeitos sobre os insetos, desde repelência até alterações no sistema hormonal causando inibição de oviposição e da alimentação, além de distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases, podendo penetrar no organismo por ingestão ou por contato (VIEGAS JÚNIOR, 2003; DEQUECH *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2011). Desse modo, metabólitos secundários de plantas, são alternativas naturais para a descoberta de novos produtos para o combate de *Lutzomyia longipalpis*.

Quanto à atividade inseticida, a eficácia do óleo essencial da casca de laranja, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, tem sido amplamente pesquisada pelas ciências agrícolas contra insetos-praga (ASTOLFI *et al.*, 2007; PAZ *et al.*, 2014; DOS SANTOS *et al.*, 2017) e apresenta um potencial para ser aplicada contra insetos vetores (GOMES & FAVERO, 2011). Portanto, devido às propriedades apresentadas pelo óleo essencial de casca de laranja, e a necessidade do desenvolvimento de novos compostos, o potencial tóxico do óleo essencial de *Citrus sinensis* no controle do vetor da leishmaniose visceral, *Lutzomyia longipalpis* foi estudado.

OBJETIVOS

2.1 Geral:

O estudo teve como objetivo investigar o potencial tóxico do uso de óleo essencial de *Citrus sinensis* como possível inseticida natural contra a espécie *Lutzomyia longipalpis*.

2.2 Específicos:

- Extrair o óleo essencial de *Citrus sinensis* de cascas de laranjas por hidrodestilação;
- Estimar o rendimento do óleo essencial de *Citrus sinensis*;
- Identificar os compostos presentes no óleo essencial de *Citrus sinensis* por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas;
- Avaliar a toxicidade do óleo essencial de *Citrus sinensis* sobre flebotomíneos adultos selvagens da espécie *Lutzomyia longipalpis*.

JUSTIFICATIVA

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença endêmica em várias regiões do Brasil. O flebotomíneo fêmea da espécie *Lutzomyia longipalpis* é o vetor responsável pela transmissão da LV no Brasil. Dessa forma, o controle desse vetor é de extrema importância para reduzir a transmissão da doença e evitar surtos e epidemias. Atualmente, o controle direcionado ao vetor, é a aplicação de inseticidas piretróides sintéticos no intradomicílio e peridomicílio. Entretanto, o uso frequente desses fez com que a suscetibilidade do inseto vetor aos compostos fosse reduzindo ao longo do tempo. De maneira a se tornar indubitável a necessidade de formas alternativas de controle.

O Brasil possuindo uma biodiversidade imensurável, viabiliza a opção de uso de óleos e extratos vegetais. Com isso, os inseticidas de origem vegetal, têm se mostrado promissores no controle de diversos insetos, principalmente os ricos em terpenos, composto esse, já conhecido pelo seu poder inseticida. Sendo destaque, os óleos essenciais provenientes de frutos cítricos que apresentam monoterpenos como seus componentes majoritários. Com o intuito de ampliar a disponibilidade de inseticidas alternativos eficazes contra os flebotomíneos, que sejam seguros e menos prejudiciais ao meio ambiente e outros organismos, o óleo essencial de laranja emerge como uma alternativa natural promissora no controle de *Lutzomyia longipalpis*.

MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

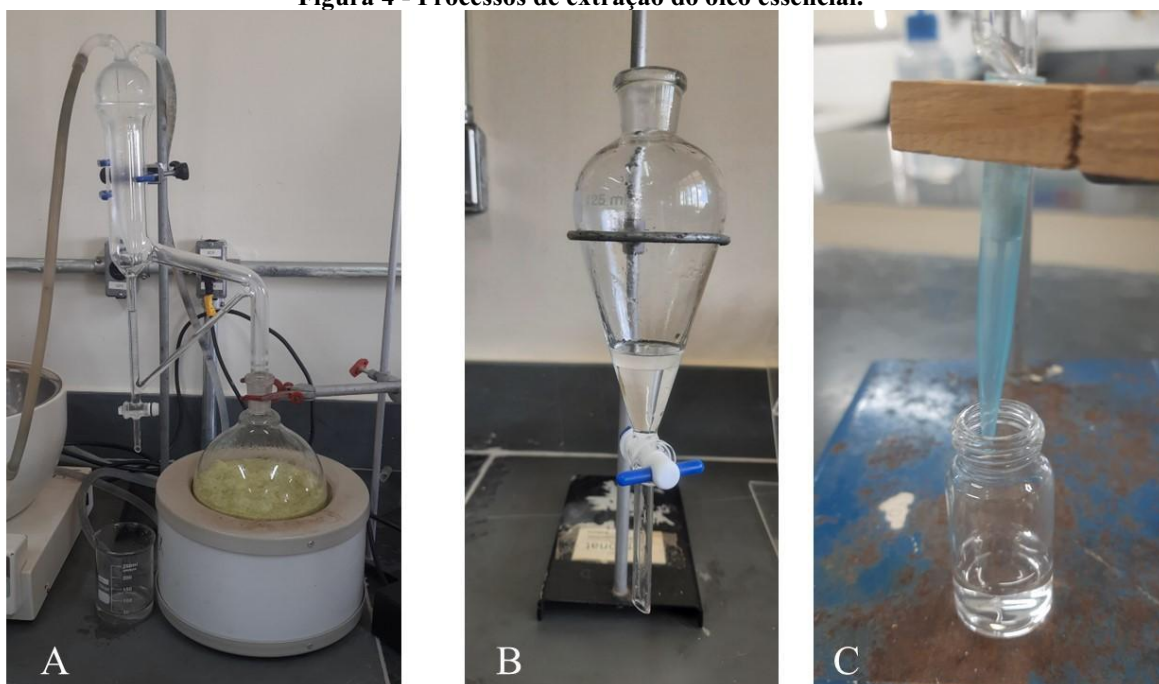
Para o estudo foram adquiridas laranjas pêra-rio (*C. sinensis*) no comércio local do município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil no dia da extração do óleo essencial. As 10 laranjas selecionadas para o estudo tinham em média 8,5 cm de diâmetro.

4.2 Extração do óleo essencial

As 10 laranjas foram lavadas com água, secas com pano limpo e descascadas com auxílio de uma faca de cozinha comum, retirando apenas o flavedo, com o mínimo possível de albedo presente. As cascas foram pesadas em balança digital com escala de 1,0 g (Aiker® SF-400), posteriormente foram trituradas em um liquidificador com água destilada, até formar uma solução homogênea, que também foi pesada utilizando a mesma balança.

Usando o aparelho do tipo Clevenger a extração foi feita por hidrodestilação. Com auxílio de um funil, a solução homogênea foi acomodada em um balão volumétrico de fundo redondo de 500 mL, que posteriormente foi colocado na manta aquecedora, em que se teve o início da destilação. Quando o sistema atingiu a temperatura de 100 °C a solução entrou em ebulição. Em seguida, foi condensada e depositada em um decantador.

Para a completa separação do OE da água, a fim de garantir a qualidade do produto, foi feita a secagem do hidrolato, no qual foi passada a solução por um algodão contendo 2,0 g de Na₂SO₄ inserido em uma ponteira de micropipeta de 1,0 mL e armazenado o óleo essencial em um frasco de vidro, os procedimentos são demonstrados na figura 3. Posteriormente, foi feita a pesagem da massa do OE obtido em balança eletrônica analítica (Marte® AY220). O óleo essencial foi mantido refrigerado e protegido de luz até o momento do uso.

Figura 4 - Processos de extração do óleo essencial.

Legenda: A - Extração do óleo essencial de *Citrus sinensis* por hidrodestilação, com uso de aparelho tipo Clevenger; B - Funil de separação contendo óleo essencial e hidrolato; C - Processo de secagem utilizando Na_2SO_4 .

Fonte: Autor.

4.3 Rendimento da extração

A confirmação do rendimento foi realizada pelo cálculo da seguinte fórmula:

$$R (\%) = \frac{\text{Quantidade de óleo essencial obtida na extração (g)} \times 100}{\text{Quantidade de casca de laranja (g)}}$$

4.4 Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas

Os constituintes do OE foram identificados por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM), utilizando o Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrômetro de massas Agilent Technologies modelo 7890B GC System/5977B GC/MSD. Foi utilizada uma coluna capilar do tipo DB-5 (5% de fenil e 95% de polidimetilsiloxano, Agilent 19091S-433 HP-5ms, 30 m x 250 μm x 0.25 μm). A análise foi realizada pelo método desenvolvido por Adams (2007). As amostras a serem analisadas foram preparadas com concentração de 5 mg mL⁻¹ em diclorometano e foram realizadas injeções de 1 μL . Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1 mL min⁻¹. O quadrupolo foi mantido a 150 °C com a fonte de íons a 280 °C. A temperatura do detector e injetor foi de 220 e 240 °C, respectivamente. Foi utilizado o modo split (1:20) de injeção. A temperatura do forno foi programada para aquecer de 60 a 246 °C com velocidade de 3 °C min⁻¹. O detector de massas operou com energia de impacto de 70 eV e foram registrados os fragmentos de 35 a 550 *m/z*.

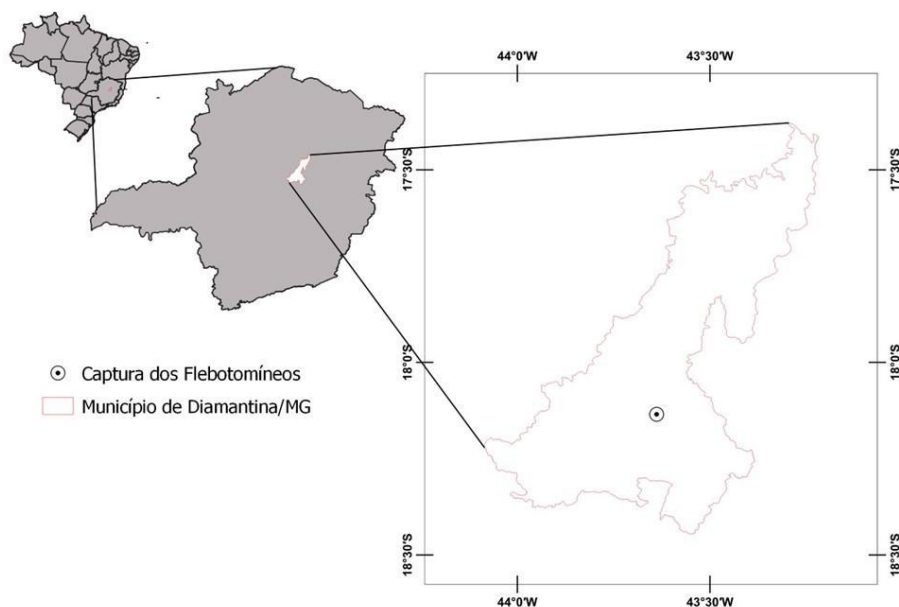
A identificação dos compostos foi baseada na similaridade dos espectros de massas com os da biblioteca NIST17 utilizando o software *Unknowns Analysis da Agilent* (índice de similaridade). Foi considerado índice de similaridade (IS) com valores superiores a 70%. Além disso, foi calculado o índice aritmético (IA), que correlaciona o tempo de retenção dos compostos analisados aos de alcanos (ADAMS, 2007). O IA calculado foi comparado ao de literaturas (ADAMS, 2007 e NIST Chemistry WebBook).

4.5 Coletas entomológicas

Os espécimes foram capturados com auxílio de armadilhas luminosas do tipo HP (PUGEDO *et al.*, 2005) em Aroeira, área rural do município de Diamantina, Minas Gerais (18°08'03.7"S - 43°38'19.0"W). Os insetos utilizados nos testes foram provenientes de

populações naturais de *Lu. longipalpis*, encontradas em um ambiente com características favoráveis, como a presença de animais domésticos e matéria orgânica.

Figura 5 - Geolocalização do município de Diamantina.



Legenda: Geolocalização do ponto de coleta dos flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis*, no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Fonte: Autor.

Os flebotomíneos capturados foram encaminhados ao Laboratório de Parasitologia do Campus JK da UFVJM, onde permaneceram em gaiolas teladas por 24 horas até o início do experimento. Algodões embebidos com solução de mel e água 1:1 foram colocados sobre a gaiola, proporcionando umidade e fonte de alimento para os animais.

4.6 Bioensaio com flebotomíneos

Com o auxílio de um capturador de Castro, dez exemplares (priorizando as fêmeas) foram transferidos para potes plásticos de 250 mL cobertos por tecidos de organza, foi feito um orifício lateral no pote para a introdução dos insetos e o mesmo foi ocluído com algodão embebido com solução açucarada para bloquear a saída e permitir passagem de oxigênio (Figura 5). Na parte superior do pote (tampa) e na inferior (fundo) foram inseridos papel de filtro embebido por 250 μ L do OE.

Figura 6 - Procedimentos para o teste biológico.

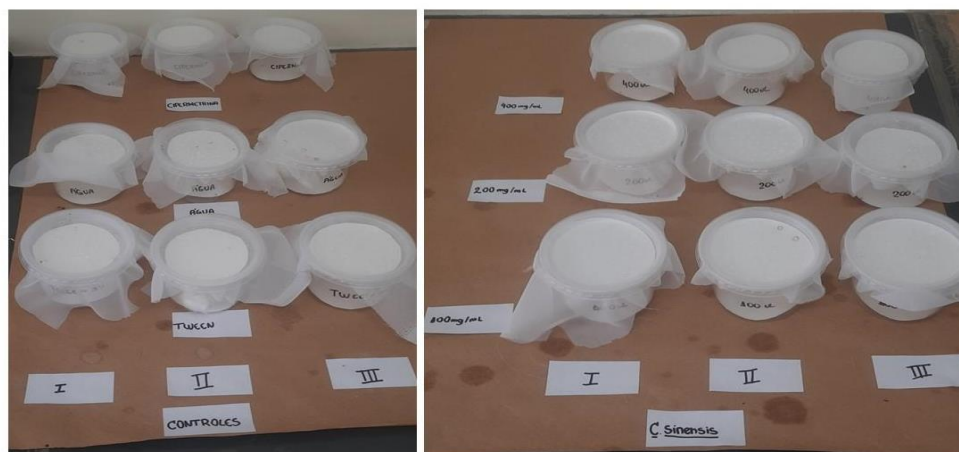


Legenda: A - Armadilhas contendo os espécimes de flebotomíneos silvestres.; B - Capturador de Castro.; C - Inserção dos flebotomíneos nos potes para a realização do teste de toxicidade.

Fonte: Autor.

Para o teste de toxicidade, o óleo essencial foi diluído em solução de polisorbato 80 (Tween®) a 3% para a obtenção das concentrações: 100 mg/mL, 200 mg/mL e 400 mg/mL. Foram feitas três repetições para cada concentração, além de três grupos controles: **i-** α -cipermetrina 196 μ g/mL (controle positivo), o principal inseticida comercial utilizado para o controle químico de flebotomíneos; **ii-** água destilada (negativo), para a avaliação de possíveis mortes naturais e **iii-** Tween® 80 a 3% (negativo), para averiguar uma possível interferência da substância utilizada para a diluição do OE.

Figura 7 - Teste de toxicidade



Legenda: Realização do teste de toxicidade do óleo essencial de *Citrus sinensis* em flebotomíneos silvestres. Fonte: Autor.

A taxa de mortalidade foi acompanhada por 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 20h, 24h, 48h e 72h. Os ensaios foram desenvolvidos em um ambiente com a temperatura mantida em torno de 25°C e 85% de umidade relativa do ar. Os flebotomíneos foram considerados como mortos

quando estavam deitados sobre a superfície e não se movimentaram quando estimulados por toques no pote.

4.6.1 Identificação específica

Posteriormente, os flebotomíneos submetidos aos testes foram preparados, montados entre lâmina e lamínula, de acordo com a técnica de Langeron (1949) e identificados ao nível específico utilizando a classificação proposta por Young & Duncan (1994).

4.7 Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando a incidência de morte por tempo avaliado entre as amostras. A análise estatística foi feita usando o Modelo de Tempo de Falha Acelerado (MTFA) com ajuste de curva lognormal ($\Delta AICc = 0$).

O Modelo de Tempo de Falha Acelerado (MTFA) é um modelo estatístico usado para estudar a taxa de falha ou risco de falha de um sistema ao longo do tempo. Nesse caso, considera-se falha, a morte do flebotomíneo, ou seja, falhou em sobreviver. A análise estatística foi realizada utilizando o critério de informação de Akaike (AIC), que visa comparar modelos estatísticos e selecionar aquele que possui o menor valor de AIC, indicando um melhor equilíbrio entre ajuste e complexidade (Tabela 1).

Tabela 1- Comparação de modelos estatísticos utilizando o critério de informação de Akaike (AIC)

| Modelo | K | AICc | $\Delta AICc$ |
|---------------|---|--------|---------------|
| Lognormal | 7 | 884,78 | 0 |
| Log-logística | 7 | 885,59 | 0,8 |
| Weibull | 7 | 891,22 | 6,44 |

RESULTADOS

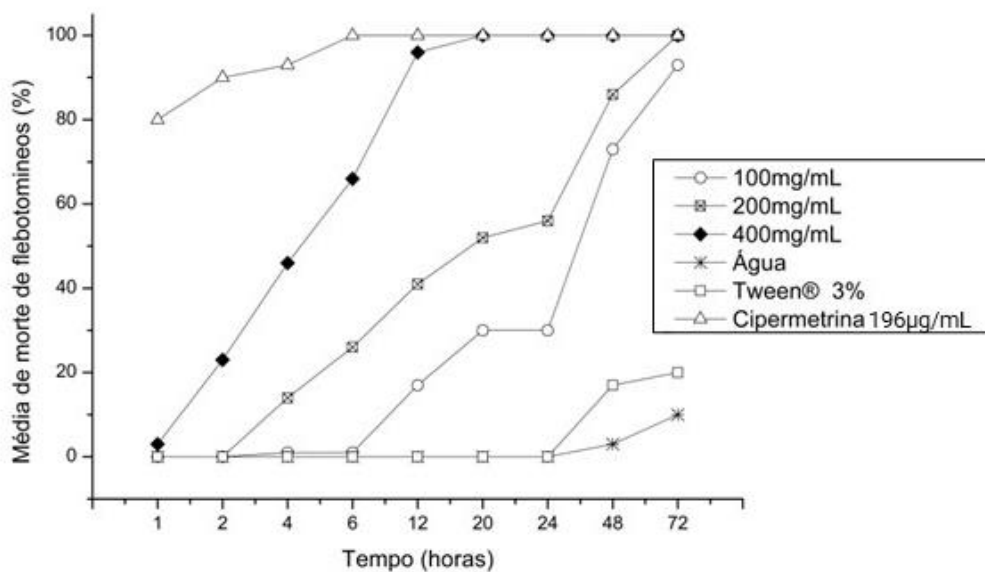
5.1 Toxicidade sobre *Lutzomyia longipalpis*

Em todas as concentrações testadas, foi observado que o óleo essencial de *C. sinensis* apresentou toxicidade para os flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis* (Figura 8). Houve alteração estatisticamente significativa na taxa de sobrevivência em todas as concentrações de OE testadas, observou-se uma relação direta entre o aumento da concentração e a mortalidade dos insetos. Especificamente na concentração de 100mg/mL, a taxa de sobrevivência em relação ao tempo foi de 18%; em 200mg/mL, foi de 11%; e na maior concentração, 400mg/mL, o valor foi de 2% (valores relacionados na tabela 2).

Tabela 2 - Resultado do teste de toxicidade do óleo essencial de *Citrus sinensis* aos flebotomíneos utilizando o Modelo de tempo de falha acelerado, com ajuste de curva lognormal ($\Delta AICc = 0$) em comparação com água.

| Tratamentos | Alteração na taxa de sobrevivência | Erro padrão | p |
|-----------------------|------------------------------------|-------------|--------|
| Intercepto | 5,262 | 0,273 | <0.001 |
| 100 mg/ml | -1,669 | 0,307 | <0.001 |
| 200 mg/ml | -2,205 | 0,317 | <0.001 |
| 400 mg/ml | -3,577 | 0,308 | <0.001 |
| Cipermetrina 196µg/mL | -5,100 | 0,297 | <0.001 |
| Tween® 3% | -0,337 | 0,326 | 0,3 |
| Log(scale) | -0,838 | 0,076 | <0.001 |

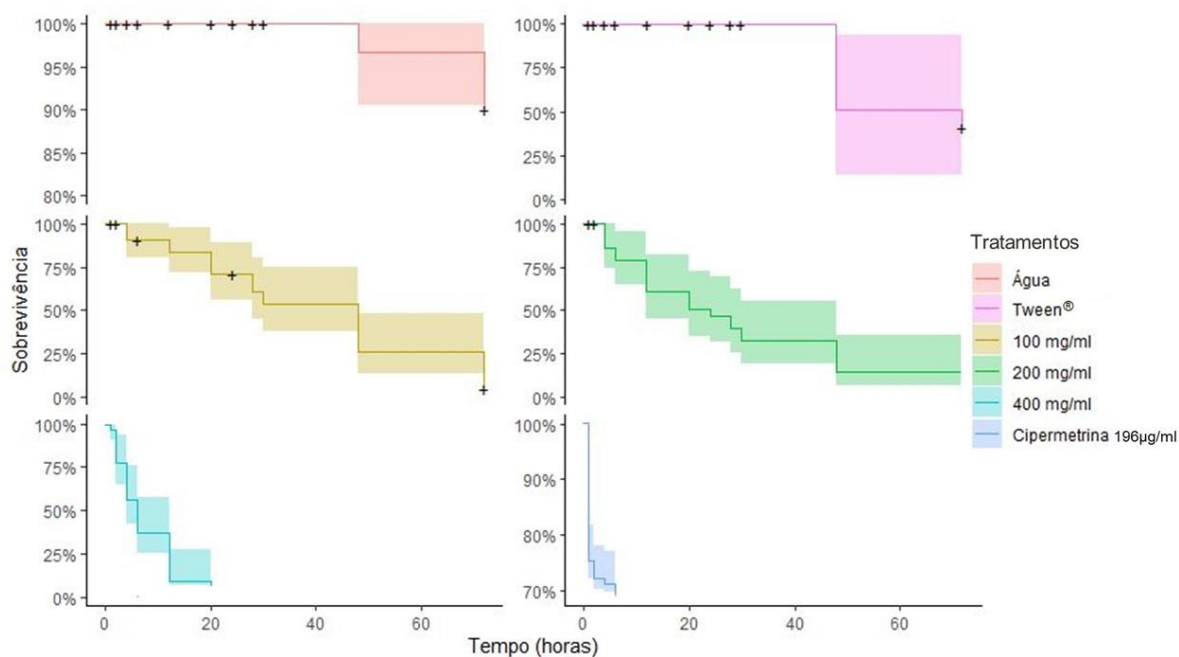
Figura 8- Gráfico da porcentagem média de morte dos flebotomíneos em relação ao tempo.



É importante ressaltar que, na concentração de 400mg/mL, houve um aumento significativo na taxa de mortalidade dos flebotomíneos de aproximadamente 3,5 em comparação com a água, de modo que em 20h de teste todos os espécimes já haviam morrido (Figura 8). Sendo a $DL(50) = 152,28 \pm 52,102$.

O controle negativo realizado com o diluente (Tween®) permitiu concluir que essa substância não interferiu na ação do óleo essencial sobre os insetos, uma vez que os resultados foram estatisticamente semelhantes ao controle com água (Figura 9). Além disso, o controle positivo realizado com cipermetrina 196µg/mL apresentou uma alta taxa de mortalidade em relação à água (0,6% de taxa de sobrevivência e 100% de mortes em 6h de observação), como ilustrado na figura 9.

Figura 9 - Gráfico da taxa de sobrevivência dos flebotomíneos em relação aos tratamentos.



Legenda: Gráfico da taxa de sobrevivência de *Lutzomyia longipalpis* em contato com as concentrações de teste do óleo essencial de cascas de *Citrus sinensis* (100 mg/mL, 200mg/mL e 400mg/mL) e os controles negativos: água e Tween® a 3%, controle positivo: cipermetrina 196µg/mL.

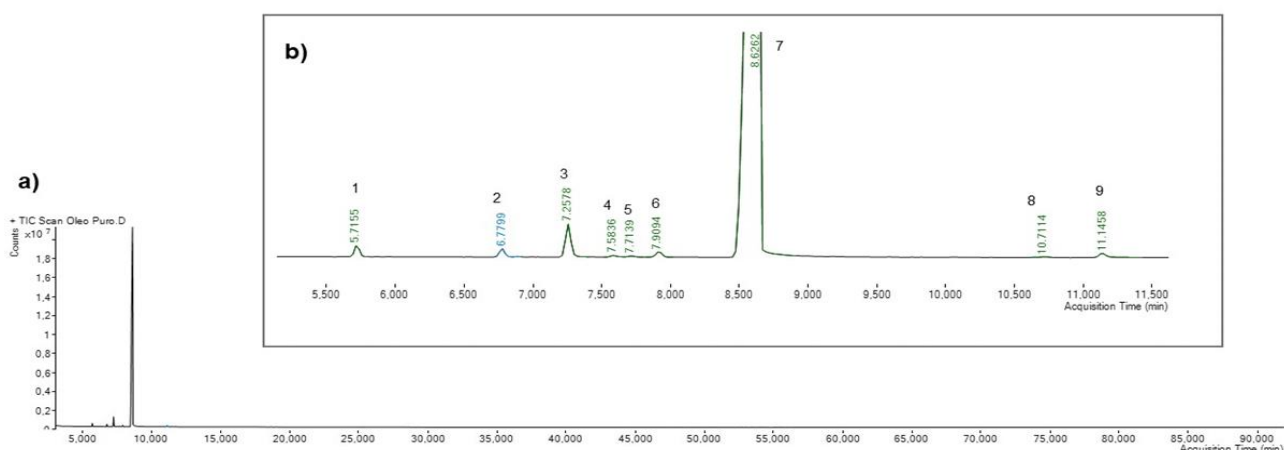
5.2 Rendimento do óleo essencial

A extração do óleo essencial das cascas trituradas de laranjas por hidrodestilação teve a duração total de 2 horas. Após 16 minutos do início da ebulição da solução, foi visível no aparelho Clevenger um volume inicial de OE, sendo crescente até o final da extração. Ao final da hidrodestilação, se obteve a massa de 9,8 g de óleo essencial proveniente de 266 g de cascas trituradas. Dessa maneira, o rendimento do OE obtido com o flavedo triturado de 10 laranjas pêra-rio foi de 3,7%.

5.3 Identificação por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas

O cromatograma do óleo essencial de *Citrus sinensis* obtido mostra o tempo de retenção de cada componente detectado no OE (Figura 10). Como pode ser observado na tabela 4, foram identificados nove componentes, os principais componentes do óleo essencial foram hidrocarbonetos monoterpênicos (C₁₀H₁₆), sendo eles: o constituinte majoritário o *d*-limoneno, com 95,11% da composição, β -mirceno (2,22%), α -pineno (0,72%), β -sabineno (0,57%), 3- δ -Careno (0,41%), α -felandreno (0,09%), α -terpinoleno (0,08%) que representam 99,2% do óleo essencial total. Além do monoterpene com função álcool, linalol (0,44%) e o aldeído, *n*-octanal (0,14%).

Figura 10 - Perfil cromatográfico (CG-MS) do óleo essencial de *Citrus sinensis*.



Legenda: A - Perfil cromatográfico (CG-MS) óleo essencial de *Citrus sinensis*; B - expansão do cromatograma entre 5,5 e 11,5 min.

Na tabela 3, observa-se os constituintes identificados por ordem do tempo de retenção.

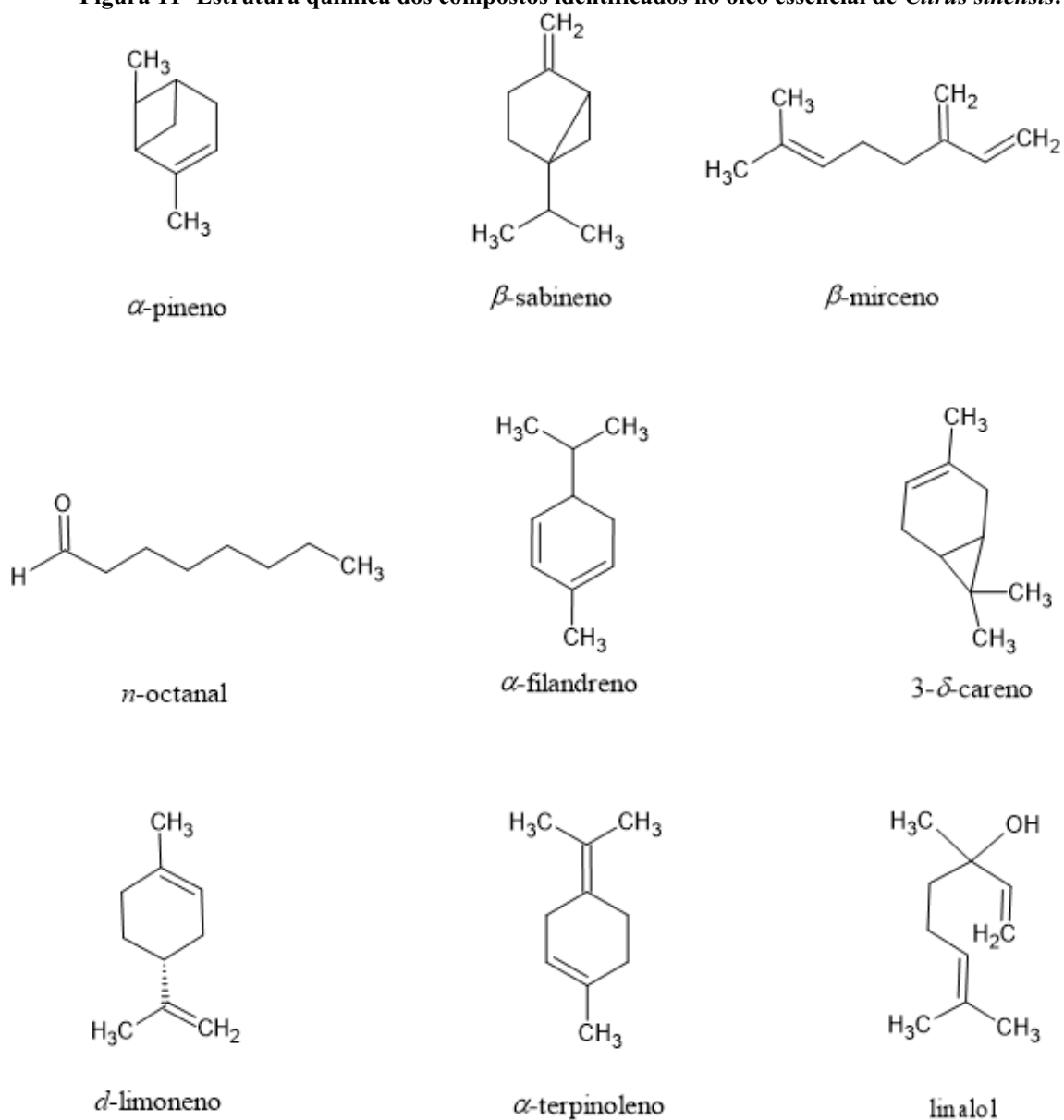
Tabela 3 - Compostos identificados por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa no óleo essencial de *Citrus sinensis*.

| Pico | T _R (min) | Compostos | TIC (%) | Fórmula Molecular | IS | IA | |
|------|----------------------|------------------------|---------|-----------------------------------|----|------------|-----------|
| | | | | | | Literatura | Calculado |
| 1 | 5.72 | α -pinene | 0.72 | C ₁₀ H ₁₆ | 82 | 932 | 932 |
| 2 | 6.78 | β -sabinene | 0.57 | C ₁₀ H ₁₆ | 95 | 969 | 972 |
| 3 | 7.26 | β -myrcene | 2.22 | C ₁₀ H ₁₆ | 98 | 988 | 990 |
| 4 | 7.58 | <i>n</i> -octanal | 0.14 | C ₈ H ₁₆ O | 96 | 998 | 1001 |
| 5 | 7.71 | α -phellandrene | 0.09 | C ₁₀ H ₁₆ | 77 | 1002 | 1005 |
| 6 | 7.91 | 3- δ -carene | 0.41 | C ₁₀ H ₁₆ | 73 | 1008 | 1010 |
| 7 | 8.63 | <i>d</i> -limonene | 95.11 | C ₁₀ H ₁₆ | 92 | 1024 | 1030 |
| 8 | 10.71 | α -terpinolene | 0.08 | C ₁₀ H ₁₆ | 99 | 1086 | 1087 |
| 9 | 11.15 | linalol | 0.44 | C ₁₀ H ₁₈ O | 73 | 1095 | 1099 |

Nota: T_R = tempo de retenção, IS= índice de similaridade; TIC (%) = cromatograma de íons totais, IA = índice aritmético.

É ilustrado na figura 11 as estruturas químicas dos nove compostos identificados no OE utilizado.

Figura 11- Estrutura química dos compostos identificados no óleo essencial de *Citrus sinensis*.



Fonte: autor.

DISCUSSÃO

Lutzomyia longipalpis é a principal espécie vetora da leishmaniose visceral no Brasil, sendo responsável por transmitir o agente etiológico *Leishmania infantum chagasi* de um hospedeiro infectado para outro (MICHALSKY *et al.*, 2011; MARCONDES & ROSSI, 2013). A leishmaniose visceral é uma enfermidade com tendência reemergente, demandando a manutenção contínua de medidas de controle, a fim de prevenir o ressurgimento da doença em locais previamente controlados (REGO & SOARES, 2021). O controle da população desse vetor desempenha um papel crucial na interrupção da cadeia de transmissão da doença (MERGEN & SOUZA, 2023). Atualmente, o controle de *Lu. longipalpis* é realizado principalmente por meio do uso de inseticidas piretróides de uso residual (ARIAS; MONTEIRO; ZICKER, 1996).

No entanto, surgiram evidências de resistência de *Lu. longipalpis* a produtos como cipermetrina e deltametrina (ALEXANDER *et al.*, 2009). A resistência de insetos aos inseticidas é um fenômeno preocupante. Sendo o resultado da exposição contínua aos produtos, algumas populações de insetos têm desenvolvido a capacidade de sobreviver aos efeitos letais dos inseticidas, reduzindo assim a eficácia desses produtos (BALASKA *et al.*, 2021). Esse desafio representa uma complexa interação entre fatores genéticos, ambientais e de seleção, exigindo abordagens inovadoras no desenvolvimento e implementação de estratégias, o que ressalta a necessidade de desenvolver métodos alternativos mais eficazes e seguros para o controle desses insetos (MAZZARRI *et al.*, 1997).

No âmbito deste trabalho, foram capturados espécimes selvagens de *Lu. longipalpis*, provenientes do município de Diamantina/MG. A baixa taxa de sobrevivência desses espécimes à cipermetrina (0,6%), de acordo com o que se vê nas figuras 8 e 9, indica a suscetibilidade da população selvagem a esse piretróide.

No entanto, o desmatamento aliado ao crescimento populacional rápido e contínuo, juntamente com notável plasticidade alimentar e adaptação da espécie *Lu. longipalpis* a ambientes antropizados tem dificultado o controle da LV (FERREIRA *et al.*, 2021). A urbanização de insetos vetores ressalta a necessidade e importância de estratégias eficazes de controle e prevenção (TAUIL, 2006). Medidas como o manejo ambiental, controle de reservatórios de *Leishmania*, uso de inseticidas e conscientização da população são essenciais para reduzir a propagação da doença (YADAV *et al.*, 2023). De modo que, todos estes fatores têm levado à busca por novos agentes inseticidas eficientes, que representem maior segurança aos humanos e ao meio ambiente (OLIVEIRA & MACIEL *et al.*, 2003).

Desde tempos ancestrais, o ser humano tem empregado extratos vegetais, numa tradição que perdura até os dias atuais, abrangendo um repertório de mais de duas mil espécies botânicas reconhecidas por suas virtudes inseticidas (DAS CHAGAS, 2016). As plantas por meio de seus metabolismos secundários sintetizam e exalam inúmeros compostos voláteis (ácidos, aldeídos e terpenos), com funções variáveis, seja para atrair polinizadores ou se defender de herbívoros. Dentre esses compostos voláteis destacam-se os terpenos. A classe dos terpenos abrange uma grande variedade de substâncias de origem vegetal, e sua importância ecológica como defensivos de plantas está bem estabelecida. Os terpenos são formados por diversas moléculas de isopreno e são classificados de acordo com o tamanho de suas cadeias carbônicas, podendo ser, monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (VIEGAS-JÚNIOR, 2003; FELIPE *et al.*, 2017).

Atualmente, os óleos essenciais extraídos de vegetais têm sido reconhecidos como possíveis fontes de compostos com atividades biológicas, principalmente devido à presença de compostos dessa classe. Os terpenos aumentam a absorção transmembrana tanto de substâncias lipofílicas quanto de substâncias hidrofílicas (EL-KATTAN *et al.*, 2001). Na literatura, é descrita a importância da lipofilicidade dos terpenos para a atividade larvicida em *Aedes aegypti* (SIMAS *et al.*, 2004). Além de que, de acordo com os estudos de PLATA-RUEDA *et al.* (2018), os insetos diminuem suas taxas respiratórias e reduzem sua mobilidade quando expostos a superfícies tratadas com terpenos.

Nesse contexto, o óleo essencial de laranja surge como uma possibilidade promissora, o que corrobora com estudos científicos que demonstraram que o óleo essencial de laranja, extraído da casca da fruta, contém compostos ativos que apresentam atividade inseticida contra diferentes espécies de insetos, como: *Musca domestica* (KUMAR *et al.*, 2012), *Aedes aegypti* (MURUGAN *et al.*, 2012; KURNIASIH *et al.*, 2021; BRANT, 2019; DA SILVA SANTOS *et al.*, 2022), *Anopheles gambiae* (ADELAJA *et al.*, 2023) além de estudos com pragas agrícolas (OYEDEJI *et al.*, 2020).

Os terpenos constituem as classes mais prevalentes nos óleos essenciais. Embora a atividade biológica desses OEs seja frequentemente atribuída aos compostos majoritários, é relevante notar que um fenômeno sinérgico entre diferentes metabólitos pode potencializar a bioatividade, demonstrando uma eficácia superior àquela observada com compostos isolados (BARROS *et al.*, 2023). Através da análise cromatográfica do óleo essencial de laranja realizada nesse estudo, foi possível identificar 9 compostos sendo os principais grupos químicos os hidrocarbonetos monoterpênicos (99,42%), álcool (0,44%) e aldeído (0,14%).

Na literatura, é amplamente reconhecido que o principal componente do óleo essencial de *Citrus sinensis* é o *d*-limoneno, um terpeno que se destaca por sua abundância e baixa toxicidade (KIM *et al.*, 2013). Para este estudo em particular, a presença desse terpeno é notável, representando expressivos 95,11% da composição, alinhando-se de maneira consistente com as informações já documentadas. No estudo de SEID (2022) o *d*-limoneno apresentou 97,14% da composição do óleo essencial; para LI (2022) o *d*-limoneno foi de 94,09% enquanto para Barros-Gomes (2020) a composição do óleo essencial foi de 81,5%. Em estudo realizado por MANZUR (2023) a presença de *d*-limoneno variou de 90,4% a 89,8% de acordo com o tipo de extração realizada.

O *d*-limoneno atua como um inseticida de contato, evaporando rapidamente das superfícies tratadas e apresentando um período residual bastante breve. Embora o mecanismo preciso de sua ação ainda não esteja completamente elucidado, acredita-se que *d*-limoneno, atua na cutícula dos insetos, solubilizando e dissolvendo as ceras e lipídios presentes. Isso compromete a integridade da camada protetora da cutícula, resultando em desidratação e morte do inseto devido à perda excessiva de água (BEATTY, 1986; OLIVEIRA-ATAIDE *et al.*, 2019). Esse efeito foi observado em pulgas conforme documentado por SCHICK e SCHICK em 1986.

Assim sendo, os compostos minoritários também são encontrados em quantidades muito variáveis, dependendo da forma de cultivo, época de colheita, e as condições ambientais (clima, tipo de solo, nutrientes disponíveis). A quantidade e os compostos identificados nesse estudo foram: β -mirceno (2,22%), α -pineno (0,74%), β -sabineno (0,57%), 3- δ -careno (0,41%), α -felandreno (0,09%), α -terpinoleno (0,08%), linalol (0,44%) e o *n*-octanal (0,14%).

Para comparação, no trabalho realizado por Duman *et al.* (2016) os valores e compostos encontrados foram: *d*-limoneno (71,80%), β -mirceno (4,55%), β -sabineno (1,39%), linalol (3,89%) e α -pineno (1,17%). Em outro estudo, os valores dos compostos identificados foram: *d*-limoneno (71,54%), β -mirceno (7,20%), linalol (4,11%), α -pineno (1,85%), β -sabineno (1,70%) e decanal (1,21%) (FARAHMANDFAR *et al.*, 2020).

A atividade repelente do composto α -pineno foi demonstrado por Ngho *et al.* (1998). O efeito antifúngico foi associado ao mesmo composto (DE BARROS *et al.*, 2022). Um estudo realizado por ACHIMÓN (2022) demonstrou o potencial inseticida e fungicida de óleos essenciais cítricos, incluindo *Citrus sinensis*, e indicou os compostos, *d*-limoneno, linalol, α -pineno, β -sabineno, como possíveis responsáveis por essas bioatividades.

Estudo realizado por ROSA (2003) indica que o composto linalol apresenta atividade antileishmania, além de ser responsável por inúmeras atividades biológicas, como demonstrado por CAMARGO (2014).

Em várias situações documentadas na literatura, o componente majoritário desempenha um papel fundamental na atividade biológica. Contudo, essa influência pode estar relacionada à interação sinérgica de diversos elementos constituintes (BAKKALI *et al.*, 2008). Como é o caso do estudo realizado por LOPES (2015) em que se concluiu que os terpenos individualmente (β -mirceno e α -pineno) não demonstraram atividade carrapaticida em *Rhipicephalus microplus*. No entanto, quando esses terpenos foram combinados com o composto majoritário do OE testado (carvacrol), uma associação sinérgica notável foi percebida, amplificando de maneira significativa o efeito carrapaticida do carvacrol. Sendo assim, para esse estudo, é possível que outros constituintes do OE estejam atuando como sinergistas, potencializando a atividade do *d*-limoneno.

Estudo realizado por SPODE (2020) em prol de verificar o possível efeito tóxico dos compostos *d*-limoneno, α -pineno, sabineno, mirceno, octanal e linalol, à saúde humana, foi realizado *in silico* por meio da plataforma ProTox-II e obteve como resultados que, em geral, o óleo essencial de laranja foi classificado como produto improvável de causar dano agudo (NBR 14725-2:2009).

Em relação ao rendimento, a partir dos resultados obtidos, pode-se verificar que a extração de óleo essencial das cascas trituradas de laranjas *Citrus sinensis* teve um alto rendimento de 3,7% (m/m) em 120 minutos de extração por meio de hidrodestilação, quando comparado com estudos similares que também fizeram a extração de cascas de laranjas por hidrodestilação; DE LIMA, PLACEDES, CARDOSO (2019) obtiveram 2,36% (m/m) de rendimento, enquanto FERNANDES (2013) obteve rendimento médio de 2,62% (v/p) utilizando o flavedo triturado, rendimento esse, superior quando comparado com o flavedo inteiro (0,49%) (v/p). Essa diferença de rendimento se dá provavelmente pelo fato de que o óleo essencial está alojado em glândulas localizadas na superfície do flavedo e o processo de trituração rompe as paredes celulares, de modo que o conteúdo no interior das glândulas fique mais acessível à ação do solvente, aumentando o rendimento da extração. Dessa maneira, triturar as cascas das laranjas influenciou para a maior quantidade de OE extraído.

Além de que, estudos realizados com a extração de cascas de laranjas vêm apresentando rendimentos superiores aos de outros materiais vegetais: como o alecrim (PRINS, LEMOS, FREITAS, 2006), menta (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012), tomilho (JAKIEMIU *et al.*, 2010), patchouli (COSTA, CARVALHO-FILHO, DESCHAMPS, 2013) e

erva-cidreira (EHLERT *et al.*,2013), demonstrando a alta viabilidade da extração do óleo essencial de *Citrus sinensis* através de hidrodestilação.

Portanto, o óleo essencial de laranja, além de demonstrar toxicidade para os flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis*, ser resultado de bioconversão e apresentar alto rendimento, esse óleo essencial pode ser menos maléfico ao meio ambiente e outros organismos. Por serem constituídos por substâncias voláteis os óleos essenciais são de baixa persistência e se degradam no ambiente, o que é uma vantagem significativa em comparação aos inseticidas tradicionais.

Desse modo, a utilização do óleo essencial de laranja no controle de *Lutzomyia longipalpis* pode oferecer vantagens significativas, como reduzir a exposição de humanos e animais a produtos tóxicos, minimizar o impacto ambiental e preservar a biodiversidade local. Além disso, o uso de produtos naturais como inseticidas pode contribuir para diminuir o risco de desenvolvimento de resistência em populações de insetos vetores (ARAÚJO, 2014).

Com o estudo, é possível refletir que a toxicidade de *C. sinensis* sobre *Lu. longipalpis* indicou que os compostos presentes na casca da laranja têm potencial letal para os flebotomíneos. Isso pode ser atribuído principalmente à alta concentração de monoterpenos em sua composição, os quais demonstraram atividade inseticida neste estudo. Esses resultados são relevantes para a exploração de novas alternativas de origem vegetal para o controle de insetos. Consequentemente, os achados evidenciam o potencial promissor da casca de laranja como fonte de agentes ativos e justificam uma investigação mais aprofundada e sistemática em busca de compostos naturais com propriedades inseticidas.

Porém, a toxicidade de uma substância química para insetos não é, por si só, suficiente para classificá-la como um inseticida. Para que uma substância seja efetivamente considerada um inseticida, é necessário que ela possua diversas propriedades associadas à sua atividade. Essas propriedades incluem a capacidade de demonstrar eficácia mesmo em concentrações reduzidas, a ausência de toxicidade para mamíferos e animais de maior porte, a não indução de fitotoxicidade, a facilidade de obtenção, manipulação e aplicação, a viabilidade econômica e a não acumulação nos tecidos adiposos de seres humanos e animais domésticos (VIEGAS-JÚNIOR, 2003).

Em vista disso, conclui-se que é necessário fazer um aprofundamento nas pesquisas para aprimorar as formulações do óleo essencial de laranja, otimizar as concentrações e determinar a eficácia em diferentes condições de campo. É importante também realizar estudos sobre a toxicidade para outros organismos não-alvo e avaliar sua viabilidade como uma estratégia sustentável e economicamente viável para o controle de *Lu. longipalpis*.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- A população selvagem de *Lu. longipalpis* de Aroeira/MG foi sensível à cipermetrina;
- O óleo essencial de cascas trituradas de *Citrus sinensis* apresentou toxicidade sobre populações selvagens de flebotomíneos adultos da espécie *Lu. longipalpis* em todas as concentrações testadas;
- O rendimento do óleo essencial de *C. sinensis* foi de 3,7%, sendo considerado um rendimento superior a de outros compostos;
- Foi identificada a presença de monoterpenos no óleo essencial, sendo o *d*-limoneno o composto majoritário;

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teste preliminar de toxicidade de *Citrus sinensis* a *Lutzomyia longipalpis* sinalizou que a casca da laranja possui compostos que podem ser letais aos flebotomíneos. Certamente, devido a sua composição ser majoritariamente feita por monoterpenos, sendo responsável pela ação inseticida observado nesse estudo. Esses resultados contribuem para a busca de novas substâncias de origem vegetal para fins inseticidas.

Sendo assim, os resultados obtidos revelam que a casca de laranja é promissora como fonte de princípios ativos e pode ser investigada de forma mais profunda e sistemática na busca por compostos naturais com atividade inseticida.

FONTE DOS RECURSOS

Aluna bolsista da CAPES/CNPq

REFERÊNCIAS

ABRANTES, T. R. *et al.* Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, p. e00021117, 2018.

ACHIMÓN, F. *et al.* Insecticidal and antifungal effects of lemon, orange, and grapefruit peel essential oils from Argentina; Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias; AgriScientia, v. 39, p.71-82, 2022.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. ed. Carol Stream: Allured Bussiness Media, 2007. 804 p.

ADELAJA, O. J. *et al.* Toxicity of insecticidal plant oils on the larval and adult stages of a major malaria vector (*Anopheles gambiae* Giles 1920). **Parasitology Research**, p. 1-8, 2023.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE transactions on automatic control**, v. 19, n. 6, p. 716-723, 1974.

AKHOUNDI, M. *et al.* A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 2016.

ALEXANDER, B. *et al.* Susceptibility to chemical insecticides of two Brazilian populations of the visceral leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Tropical Medicine and International Health**, v. 14, n. 10, p. 1272–1277, 2009.

ALEXANDER, B.; USMA, M. Potential sources of sugar of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia youngi* in a Colombian coffee plantation. **Ann Tropical Medicine Parasitology**, v. 88, n. 5, p. 543-549, 1994.

ALMEIDA, P. S. *et al.* Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 723-727, 2010.

ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

ANDRADE, H. T. A.; SERPA FILHO, A. **Princípios Básicos de Entomologia Médica**. Natal: EDUFRN, 2021. 171 p.

ARAUJO, A. F. O. Atividade larvicida dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Citrus sinensis* em populações de *Aedes aegypti*. 2014. 63 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115890>>.

ARIAS, J. R.; MONTEIRO, P. S.; ZICKER, F. The reemergence of visceral leishmaniasis in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 2, n. 2, p. 145, 1996.

ASTOLFI, V. *et al.* Estudo do efeito repelente e inseticida do óleo essencial das cascas de citrus sinensis l. Osbeck no controle de *Sitophilus zeamais* mots em grãos de milho (zea mays l.). **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu - MG.**

AYUB, M. A. *et al.* Comparison of conventional extraction techniques with superheated steam distillation on chemical characterization and biological activities of *Syzygium aromaticum* L. essential oil. **Separations**, v. 10, n. 1, p. 27, 2023.

AZEVEDO, R. *et al.* Leishmaniose Visceral no Brasil: o que é preciso saber. **Brazilian Journal of Global Health**, v. 3, n. 1, p. 24-31, 2021.

BALASKA, S. *et al.* Chemical control and insecticide resistance status of sand fly vectors worldwide. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009586, 2021.

BARACHO, A. O. Avaliação do potencial inseticida de extratos de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). 2018. 55 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

BARATA, R. A. *et al.* Controle da leishmaniose visceral no município de Porteirinha, Estado de Minas Gerais, no período de 1998 a 2003. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.3, p. 386-388, 2011.

BARATA, R. A. *et al.* Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 421-425, 2005.

BARBOSA, F. R.; DA SILVA, C.S.B.; CARVALHO, G.K.L. Uso de inseticidas alternativos no controle de pragas agrícolas. **Embrapa Semiárido-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.

BARQUERO, M.; NIELSEN, R.M. Resíduos totales de DDT en tejido adiposo de agricultores residentes en tierras altas y bajas de Costa Rica. **Actamedica Costarricense**, v. 30 n. 2, p. 62-66, 1987.

BARROS, D. B. *et al.* Atividade antifúngica de terpenos isolados da caatinga: uma revisão. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e270966, 2023.

BARROS-GOMES, P. R. *et al.* Estudo da composição química, toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 49, n. 1, p. 28-43, 2020.

BATISTA-SANTOS, F. *et al.* Eco-epidemiological aspects of visceral leishmaniasis in the municipality of Diamantina, Jequitinhonha Valley (Minas Gerais State, Brazil). **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 94, n. 2, p. 209-215, 2021.

BEATTY, J. H. Limonene-A natural insecticide. **Journal of Chemical Education**, v. 63, n. 9, p. 768, 1986.

BICAS, J. L.; DIONISIO, A.P.; PASTORE, G. M. Bio-oxidation of terpenes: an approach for the flavor industry. **Chemical reviews**, v. 109, n. 9, p. 4518-4531, 2009.

BOFF, C. C. *et al.* Desenvolvimento de sorvete de chocolate utilizando fibra de casca de laranja como substituto de gordura. **Ciência Rural**, v. 43, p. 1892-1897, 2013.

BRANT, F. G. C. *et al.* **Teste do óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) encapsulado em leveduras para o controle da população de *Aedes aegypti* em Belo Horizonte-MG.** 2019. Tese de Doutorado

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.** 1a. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRAZIL, R. P. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 3, p. 263-264, 2013.

BRILHANTE, O. FRANCO, R. Avaliação da contaminação e identificação das rotas ambientais de exposição ao HCH, ao DDT e aos metais na Cidade dos Meninos, Amapá, Figueiras e Pilar, área metropolitana do Rio de Janeiro. **Caderno de Saúde Coletiva, (Rio de Janeiro)**, 2007.

BRUSTOLONI, F. M. *et al.* Aspectos socioeconômicos e conhecimento de familiares de crianças acometidas pela Leishmaniose Visceral no Mato Grosso do Sul. **Ensaio e Ciências Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 3, 2013.

BUSATO, N. V. *et al.* Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1574-1582, 2014.

CAMARGO, S. B.; DE VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.

CAMERON, M. M. *et al.* Sugar meal sources for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Ceara State, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, n. 3, p. 263-272, 1995.

CECÍLIO, P.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; OLIVEIRA, F. Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with *Leishmania* parasites. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 305, 2022.

CIARAVOLO, R. M. C. *et al.* Vigilância entomológica e controle vetorial no Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral no estado de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, p. 24-34, 2015.

CIRIMINNA, R. *et al.* Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. **Chemical Communications**, v. 50, n. 97, p. 15288-15296, 2014.

COHN, B. A. *et al.* DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environmental health perspectives*, v. 115, n. 10, p. 1406-1414, 2007.

COSTA, C. H. N.; TAPETY, C.M.M.; WERNECK, G.L. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 415-419, 2007.

COSTA, G. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; DESCHAMPS, C. Rendimento e composição do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) conforme o tempo de extração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 319-324, 2013.

CRUZ, C. S. S. Fatores associados à ocorrência da leishmaniose visceral humana durante epidemias urbanas no Brasil e estudo da distribuição espaço-temporal e do perfil clínico-epidemiológico dos casos em Araçuaí. Tese (Doutorado - Programa de Pós Graduação em Infectologia e Medicina Tropical) - UFMG. Belo Horizonte, 2021.

DA SILVA SANTOS, A. L. *et al.* Composição química, atividade larvicida, inseticida e repelente e larvicida de óleos essenciais frente ao *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e37611225711-e37611225711, 2022.

DAS CHAGAS, F. *et al.* Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). **Ciência e Natura**, v. 38, n. 2, p. 637-647, 2016.

DE BARROS, D. B. *et al.* Efeito antifúngico de α -pineno isolado e em associação com antifúngicos frente às cepas de *Candida albicans*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e58711427748-e58711427748, 2022.

DE CASTRO COITINHO, R. L. B. *et al.* Efeito residual de inseticidas naturais no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, 2006.

DE LIMA, F. B.; PLACEDES, J.; CARDOSO, C. R. Avaliação do rendimento de hidrodestilação para a produção de óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v. 4, n. 3, p. 257-266, 2019.

DE MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.

DE OLIVEIRA, A. R. M. F. *et al.* Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 155-159, 2012.

DE OLIVEIRA, J. A. S; RODRIGUES, D.W. Óleos essenciais de *Piper l.*(Piperaceae) e sua aplicação biotecnológica na agricultura: uma revisão da literatura. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 2, p. 100-110, 2021.

DE SILANS, L. N. M. P. Estudo para a adequação de doses de inseticidas de efeito residual, para o controle de *Lutzomyia longipalpis*. **Consulta De Expertos Ops/Oms Sobre Leishmaniasis Visceral En Las Américas**, p. 89-93, 2005.

DE SOUSA, R. L. T *et al.* Padrões de fonte alimentar dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) vetores das Leishmanioses: uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 8, p. e8567-e8567, 2021.

DEQUECH, S. T. B. *et al.* Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, p. 551-554, 2009.

DIAS, F. O. P; LOROSA, E.S.; REBÊLO, J.M.M. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 1373-1380, 2003.

DIOTAIUTI, L. *et al.* Avaliação do programa de controle vetorial da doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil, com referência especial ao *Triatoma sordida*. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)**; **118 (3)**, mar. 1995.

DOS SANTOS, D. M. *et al.* Utilização de óleo essencial de duas variedades de laranja na eclosão de *Meloidogyne javanica*. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 20, n. 3, 2017.

EHLERT, P. A. D. *et al.* Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) NE Br.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 72-77, 2013.

EL-KATTAN, A. F. *et al.* The effects of terpene enhancers on the percutaneous permeation of drugs with different lipophilicities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 215, n. 1-2, p. 229-240, 2001.

FARAHMANDFAR, R. *et al.* Changes in chemical composition and biological activity of essential oil from Thomson navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) peel under freezing, convective, vacuum, and microwave drying methods. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 124-138, 2020.

FELIPE, L. O. *et al.* Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERNANDES, I. J. *et al.* Avaliação da extração de óleo essencial do resíduo casca de laranja. In: Anais do Forum Internacional de Resíduos Sólidos, Porto Alegre, RS, Brasil. Recuperado de <http://www.institutoventuri.org.br/ojs/index.php/firs/article/view/558/418>. 2013.

FERREIRA, J. R. S. *et al.* Leishmaniose visceral americana em estado do nordeste brasileiro: aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2021.

FERREIRA, O. O. *et al.* Essential oil of the plants growing in the Brazilian Amazon: Chemical composition, antioxidants, and biological applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 2022.

FLORES, A. V. *et al.* Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, p. 111-124, 2004.

GARCÍA GUZMÁN, M. D.; NÁJERA-MORRONGO, J. A. Agricultura, malaria y el uso de plaguicidas. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)**; 74 (6), jun. 1973, 1973.

GARCÍA, A.; CARRIL, E. P. U.; Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (Biología)**, v. 2, n. 3, 2011.

GOMES, S. P.; FAVERO, S. Avaliação de óleos essenciais de plantas aromáticas com atividade inseticida em *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae). **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2011.

GUARDA, C. *et al.* Atividade larvicida de produtos naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida temefós no controle do *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Interciência**, v. 41, n. 4, p. 243-247, 2016.

GUEDES, R. N. C. *et al.* Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch.(Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 2, p. 145-150, 1995.

HAAG, J. D.; LINDSTROM, M.J.; GOULD, M.N. Limonene-induced regression of mammary carcinomas. **Cancer Research**, v. 52, n. 14, p. 4021-4026, 1992.

HOSSAIN, M. A.; ALRASHDI, Y. B. A.; AL TOUBY, S. A review on essential oil analyses and biological activities of the traditionally used medicinal plant *Thymus vulgaris* L. **International Journal of Secondary Metabolite**, v. 9, n. 1, p. 103-111, 2022.

JACOBI, P. R.; GIATTI, L.; TOLEDO, R. F. A reflexividade em oposição à massificação da produção agrícola. **Ambiente & Sociedade**, v. 19, n. 3, p. 0-0, 2016.

JAKIEMIU, E. A. R. *et al.* Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.

KIM, Y. W. *et al.* Safety evaluation and risk assessment of d-limonene. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 16, n. 1, p. 17-38, 2013.

KUMAR, P. *et al.* Insecticidal evaluation of essential oils of *Citrus sinensis* L. (Myrtales: Myrtaceae) against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Parasitology research**, v. 110, p. 1929-1936, 2012.

KURNIASIH, N. *et al.* Toxicity of essential oils from orange (*Citrus sinensis* L. Obbeck) and lemongrass (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) on *Aedes aegypti* a vector of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2021. p. 012015.

LANGERON, M. Précis de microscopie. Masson et Cie, **Libraires de L'Académie de Medicine**, Saint-Germain. Paris, 1. 1949.

LANGSI, J. D. *et al.* Evaluation of the insecticidal activities of α -Pinene and 3-Carene on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Insects**, v. 11, n. 8, p. 540, 2020.

LECOURT, M. *et al.* From biosynthesis in plants to post-biosynthetic enzymatic conversion. Generation of odor-impact rose oxides from citronellol-rich essential oils. **Botany Letters**, v. 170, n. 1, p. 15-27, 2023.

LI, C. *et al.* Variation in compositions and biological activities of essential oils from four citrus species: *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, *Citrus paradisi*, and *Citrus reticulata*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 4, p. e202100910, 2022.

LIMA, E. P. *et al.* Exposição a pesticidas e repercussão na saúde de agentes sanitários no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, p. 2221-2230, 2009.

LOIOLA, C. C. P.; SILVA, C.J.; TAUIL, P.L. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 11, p. 235-244, 2002.

LOPES, M. S. Efeito sinérgico da associação de terpenos sobre larvas do carrapato bovino *Rhipicephalus microplus*. 2015. 44 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2015.

MACIEL, M. V. *et al.* Atividade inseticida *in vitro* do óleo de sementes de nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 07-11, 2010(a).

MACIEL, M. V. *et al.* Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**, v. 167, n. 1, p. 1-7, 2010 (b).

MANZUR, M. *et al.* *Citrus sinensis* essential oils an innovative antioxidant and antipathogenic dual strategy in food preservation against spoilage bacteria. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 246, 2023.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Atheneu, 2011. 45-67 p.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 382-387, 2007.

MERGEN, M. E.; SOUZA, M. M. Leishmaniose Visceral canina, métodos diagnósticos e tratamento na atualidade—Revisão de literatura. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 6, n. 13, p. 1024-1036, 2023.

MICHALSKY, E. M. *et al.* Infecção natural de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum chagasi* em flebotomíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 58-62, 2011.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E.S.; DIAS, E.S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 365-368, 2008.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, v. 15, p. 1-23, 2012.

MOTA, D. S. A. Efeitos do D-limoneno incorporado em membranas bioativas de colágeno sobre a cicatrização de feridas cutâneas. 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2019.

NETO, A. S. L.; NASCIMENTO, O.J.; DE SOUSA, G.S. Dengue, zika e chikungunya—desafios do controle vetorial frente à ocorrência das três arboviroses—parte I. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 29, n. 3, p. 305-312, 2016.

OLIVEIRA ATAIDE, J. *et al.* Os óleos essenciais de *citrus* tem ação inseticida sobre a lagarta do morango? **Nucleus (16786602)**, v. 16, n. 1, 2019.

OLIVEIRA, B. F. G. *et al.* Updating ecological and behavioral aspects of the sandfly fauna in the Vale do Ribeira Region, São Paulo State, Brazil. **Insects**, v. 12, n. 11, p. 988, 2021.

OLIVEIRA, M. R.; MACIEL, J. N. Aspectos Socioeconômicos da Leishmaniose Visceral em João Pessoa-Paraíba-Brasil. **Revista Brasileira de Ciência da Saúde**, p. 63-70, 2003.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N. *et al.* Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2183-2186, 2008.

OYEDEJI, A. O. *et al.* Insecticidal and biochemical activity of essential oil from *Citrus sinensis* peel and constituents on *Callosobrunchus maculatus* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 168, p. 104643, 2020.

PAIVA, B. R. **Utilização da PCR na identificação de espécies de leishmânias e do hábito alimentar em flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) de regiões do Mato Grosso do Sul, Brasil.** 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PAVELA, R. *et al.* Essential oil antifeedants against armyworms: promises and challenges. **Entomologia Generalis**, 2023.

PAZ, H. H. R. *et al.* Eficiência do uso do óleo de laranja no controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). In: **Embrapa Semiárido-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 25., 2014, Goiânia. Entomologia integrada à sociedade para o desenvolvimento sustentável: anais. Goiânia: Sociedade Entomológica do Brasil, 2014., 2014.

PESSOA, G. C. D. *et al.* Baseline susceptibility to alpha-cypermethrin in *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) from Lapinha Cave (Brazil). **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, 2015.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 92-95, 2006.

PUGEDO, H. *et al.* HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 1, p. 70-72, 2005.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2948–2952, 2008.

RANGEL, E. R; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003.

REGO, F. D.; SOARES, R. P. *Lutzomyia longipalpis*: an update on this sand fly vector. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, p. e20200254, 2021.

ROCHA, D. A. Influência de parâmetros biológicos na suscetibilidade de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) a inseticidas. 2020. 257 f., il. Tese (Doutorado em Medicina Tropical - Universidade de Brasília, Brasília, 2020).

RODRIGUES, A. C. C.; PAPA, L. P. Leishmaniose Visceral. In: **IX JORNACITEC-Jornada Científica e Tecnológica.** 2020.

RODRIGUES, D. *et al.* Aplicação de óleos essenciais no controle alternativo da antracnose no Brasil. **Metodologias e Aprendizado**, v. 4, p. 33-40, 2021.

ROMERO, G. A. S. O controle de leishmaniose visceral no Brasil: transformar é preciso. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, 2016.

ROSA, G. A. Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Trixis vauthieri* DC sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). 2020. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

ROSA, M. do S. S. *et al.* Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1895-1901, 2003.

SANTOS, D. D. M. Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil. 2018. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

SANTOS, M. A. T. dos; AREAS, M. A. REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.

SEID, L. *et al.* Valorization of *Citrus sinensis* wastes for the production of orange essential oil: identification of chemical composition and antibacterial activity. **Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 14, n. 3, p. 490-508, 2022.

SILVA, D. F.; FREITAS, R. A.; FRANCO, A. M. R. Diversidade e abundância de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas de mata do nordeste de Manacapuru, AM. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 138-144, 2007.

SILVA, R. A. *et al.* Ecologia de *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia migonei* em uma área endêmica para Leishmaniose Visceral. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 320-327, 2014.

SILVEIRA, A. C.; DIAS, J. C. P. O controle da transmissão vetorial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 52-63, 2011.

SIMAS, D. L. R. *et al.* Caracterização dos óleos essenciais de frutas cítricas. **Citrus Research & Technology**, v. 36, n. 1, p. 15-26, 2017.

SIMAS, N. K. *et al.* Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.

SINCURÁ, Y. R. Ação inseticida de extratos de folhas e cascas de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). 2018. 46

p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

SOARES, C. S. A. *et al.* Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrintea arnobia*, stoll: Lepidoptera: Geometridae. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 30, 2011.

SOLIVO, L. História do DDT no Brasil (1940 a 1980): de defensivo a veneno. 2022. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em História, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, 2022.

SOUSA, I. J. O. *et al.* A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **Revista UNINGÁ Review**, v. 31, n. 1, 2017.

SOUZA, T. R. M. Óleos essenciais de alecrim-pimenta e capim citronela no controle da antracnose da goiaba. 2021. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

SPODE, E. F. **Estudo da degradação e propriedades físico-químicas do extrato aquoso da casca de laranja das espécies *Citrus sinensis* e *Citrus aurantium***. 2020. Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Biotecnológicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2020.

TAUIL, P. L. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 275-277, 2006.

TURUSOV, V.; RAKITSKY, V.; TOMATIS, L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 2, p. 125-128, 2002.

VAN DEN BERG, H. Global status of DDT and its alternatives for use in vector control to prevent disease. **Ciencia & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 575-590, 2011.

VÁZQUEZ-AGUILAR, M. *et al.* Essential Oils: An Overview of Extraction Methods, Applications, and perspectives. **Biocontrol Systems and Plant Physiology in Modern Agriculture**, p. 93-124, 2023.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

YADAV, P.; *et al.* Unusual Observations in Leishmaniasis-An Overview. **Pathogens**, v. 12, n. 2, p. 297, 2023.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. **Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)**. Gainesville: Associated Publishers, 1994.