

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

ANDREY PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE PREPARADO
FITOTERÁPICO DE *CURCUMA LONGA*: ATIVIDADE LARVICIDA EM
PRÉ PUPAS DE *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX* (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE)**

FLORIANÓPOLIS – SC

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

ANDREY PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE PREPARADO FITOTERÁPICO
DE *CURCUMA LONGA*: ATIVIDADE LARVICIDA SOBRE LARVAS EM PRÉ PUPAS
DE *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência para
obtenção do Diploma de Graduação em
Zootecnia da Universidade Federal de
Santa Catarina.

Orientadora: Prof. Patrizia Ana
Bricarello

FLORIANÓPOLIS – SC

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Pereira, Andrey

Desenvolvimento de preparado fitoterápico de Curcuma longa: Atividade larvicida em pré pupas de Cochliomyia hominivorax (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) / Andrey Pereira ; orientador, Patrizia Ana Bricarello, 2019. 33 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Zootecnia, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

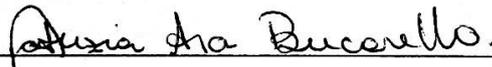
1. Zootecnia. 2. Mífase. 3. Fitoterapia. 4. Cochliomyia hominivorax. 5. Saúde animal. I. Bricarello, Patrizia Ana. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Zootecnia. III. Título

ANDREY PEREIRA

Desenvolvimento de preparado fitoterápico de *Curcuma longa*: Atividade larvicida em pré pupas de *Cochliomyia hominivorax* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Banca Examinadora:



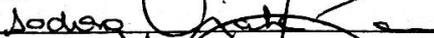
Patrícia Ana Bricarello

Prof.^a do departamento de Zootecnia, Dr.^a

Orientador



Jaqueline Seugling



Isadora Nicole Lara Piccinin

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família. Todo suporte que sempre recebi é de extrema importância, tanto pessoal quanto profissional. Tudo que conquisei até hoje, não seria possível sem a presença de vocês ao meu lado, todos os ensinamentos e lições fizeram que eu me tornasse o melhor de mim.

AGRADECIMENTOS

Aos agradecimentos, em especial, à todas as pessoas que passaram durante a minha graduação acadêmica, onde pude realizar diversas trocas de experiência.

Gostaria de fazer uma menção honrosa ao Laboratório de Bioquímica e Produtos Naturais (Labinat) e ao Laboratório de Parasitologia Animal, coordenados pelas Profs Shirley Kuhnen e Patrizia Ana Bricarello, respectivamente, onde tive oportunidade de adquirir conhecimento enriquecedor além das salas de aula, sou muito grato pela oportunidade de trabalhar com pessoas tão inteligentes, obrigado! Poderão contar comigo.

Queria também agradecer à Jaqueline e ao Giuliano, pois mesmo com todas as dificuldades para a realização do Trabalho, seguimos forte com a mesma ambição de vitória. Obrigado por toda parceria e alegria em todo esse período, mesmo com experimentos no período da noite e com trabalhos exaustivos, conseguíamos aliar com momentos de muita alegria. Vocês foram muito importantes para o início da minha carreira profissional!

RESUMO

Animais afetados por miíase causada pela *C. hominivorax* tendem a mostrar comportamentos de queda de apetite e menor ingestão de alimento, resultando em perda de rendimento de carcaça, depeciando o couro e a pele do animal, além de promover o bem-estar animal e reduzir os efeitos colaterais. A forma de tratamento mais utilizada consiste em inseticidas que a longo prazo podem causar danos ao solo, a água, e ao alimento que estamos ingerindo. O uso de plantas medicinais pode ser uma alternativa ao uso destes produtos sintéticos. Este trabalho tem como objetivo analisar a eficácia larvicida do óleo essencial da raiz de *Curcuma longa* sobre larvas de *C. hominivorax in vitro*, visando o desenvolvimento de um produto alternativo aos quimiossintéticos. As plantas utilizadas na produção do óleo essencial são advindas do município de Biguaçu, SC, de uma propriedade praticante do sistema de cultivo orgânico. Foram usadas larvas de *C. hominivorax* em estágio de pré-pupas oriundas de uma colônia laboratorial. Os testes larvicidas foram realizados em frascos de vidro com 15 larvas em estágio pré-pupa e em cinco repetições para cada concentração deste (5%, 10%, 15%, 20%), além dos grupos controles (água, sem substância, Tween 80 e Triclorfon), obtendo assim uma análise mais qualificada da ação larvicida do óleo da raiz de *Curcuma longa*. O preparado fitoterápico apresentou efeito larvicida em *C. homonivorax* em condições *in vitro*, com resultados moderados principalmente nas maiores concentrações, e que podem indicar a continuidade desta linha de pesquisa no futuro, visando na obtenção de uma tecnologia apropriada ao combate deste díptero.

Palavras-chave: Parasitologia, plantas medicinais, preparado fitoterápico

ABSTRACT

Animals affected by *Cochliomyia hominivorax* myiasis tend to show decreased appetite behaviors and lower feed intake, resulting in loss of carcass yield, depreciation of animal skin and skin, and promoting animal welfare and reducing the side effects (Santana, 2015). The most commonly used form of treatment is insecticides that in the long run can cause damage to the soil, water, and food we are eating. The use of medicinal plants may be an alternative to the use of these synthetic products. This work aims to analyze the larvicidal efficacy of *Curcuma longa* root essential oil on *C. hominivorax* larvae in vitro, aiming at the development of an alternative product to chemosynthetics. The plants used in the production of essential oil come from the municipality of Biguaçu, SC, from a practicing property of the organic farming system. Pre homegrown *C. hominivorax* larvae from a laboratory colony were used. Larvicide tests were performed in glass vials with 15 pre-pupal larvae and five repetitions for each concentration (5%, 10%, 15%, 20%), in addition to the control groups (water, no substance, Tween 80 and Triclorfon), thus obtaining a more qualified analysis of the larvicidal action of *Curcuma longa* root oil.

The phytotherapeutic preparation showed larvicidal effect on *C. homonivorax* under in vitro conditions, with satisfactory results that may indicate the continuity of this research line in the future, aiming to obtain an appropriate technology to combat this diptera.

Key words: Parasitology, medicinal plants, herbal medicine

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1- Miíase com larvas de <i>Cochliomyia homivorax</i> em dorso de ovino.. | 17 |
| Figura 2- Ciclo completo do inseto..... | 22 |
| Figura 3- Aparelho de Clevenger. | 23 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1- Análise da mortalidade das pré pupas de <i>C. hominivorax</i> após aplicação do óleo de <i>Curcuma longa</i> nas concentrações 5%, 10%, 15% e 20%, além do controle negativo (água, sem substância e Tween 80), e controle positivo (Triclorfon)..... | 26 |
| Gráfico 2- Mortalidade de pré pupas de <i>C. hominivorax</i> | 27 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

B.O.D- Estufa incubadora (Biochemical oxygen demand)

L1- Refere-se à “larvas de primeiro estágio”

L2- Refere-se à “larvas de segundo estágio”

L3- Refere-se à “larvas de terceiro estágio”

SUMARIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. OBJETIVOS..... | 15 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 15 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 15 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 16 |
| 3.1 Miíases por <i>Cochliomyia hominivorax</i> em animais zootécnicos..... | 16 |
| 3.2 Fitoterapia..... | 18 |
| 3.3 <i>Curcuma longa</i> | 19 |
| 4. METODOLOGIA..... | 20 |
| 4.1 Criação dos dípteros em laboratório..... | 20 |
| 4.2 Extração do óleo essencial da raiz de <i>Curcuma longa</i> | 21 |
| 4.3 Testes de eficácia larvicida <i>in vitro</i> | 22 |
| 4.4 Análise estatística..... | 23 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 25 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 28 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 29 |

1 INTRODUÇÃO

A mosca *Cochliomyia hominivorax*, popularmente conhecida como a mosca da bicheira, pertence à família Calliphoridae, ordem Díptera, originária da América, presente nos países de clima tropical e é um dos ectoparasitos mais importantes dos animais domésticos e selvagens (Moya-Borja, 2003).

Em seu ciclo de vida, os indivíduos obrigatoriamente devem passar por estágios larvais que se desenvolvem ao alimentarem-se dos tecidos vivos dos hospedeiros de sangue quente. Após realizar a postura no tecido exposto do animal, principalmente nas extremidades e no umbigo de recém-nascidos, as larvas eclodem e causam danos catastróficos tanto para o animal quanto para a produção agropecuária. A espécie *C. hominivorax* é causadora de miíase primária, que além de poder acometer o ser humano, compromete muito a produção animal, principalmente em bovinos (Teixeira, 2013).

As fêmeas da mosca depositam sua postura na região lesionada, de onde posteriormente eclodem as larvas de primeiro estágio (L1), onde estas penetram na lesão e começam a se alimentar do exsudato inflamatório liberado pelo tecido agredido. Ao mudar de tamanho, ou seja, entrando ao segundo estágio larval (L2), a larva continua alimentando-se dos tecidos do animal, até adquirir as condições de terceiro estágio larval (L3), neste momento, a larva abandona o animal em direção ao solo, onde, posteriormente dará início ao processo de pupação. Portanto, a duração de estágios larvais é de 24 horas para L1, 48 horas para L2, e cerca de 5 dias para L3, totalizando sete dias, em condições ambientais favoráveis (Brito et al, 2008).

O Brasil é um dos maiores produtores de carne animal, possuindo numerosos rebanhos e sistemas altamente tecnificados. A presença de *C. hominivorax* nos rebanhos impacta negativamente na lucratividade do produtor, pois além de deixar o animal parasitado e debilitado, condena sua carcaça e deprecia o couro do animal. O

controle destes parasitas acaba demandando maiores gastos com medicações e respectiva mão de obra para tratamento adequado (Duarte, 2012).

Grisi et al. (2014), em um estudo com 432 bezerros monitorados até o desmame constataram a ocorrência de miíase umbilical causada pela *C. hominivorax*, em 40,7% dos animais, dos quais 5,5% apresentaram reinfestações. Segundo esses autores, existe um potencial de perda por mortalidade nos rebanhos bovinos estimado em aproximadamente U\$310,55 milhões anualmente no Brasil.

O uso indiscriminado e inadequado de antiparasitários na produção animal aumenta riscos de resistência aos quimiossintéticos, modificando o genoma do parasita e tornando-o resistente ao antiparasitário aplicado, além da presença de resíduos químicos na carne, no leite, e no solo, trazendo riscos à saúde humana e aos animais (EMBRAPA, 2016). Portanto, o uso de plantas medicinais surge como uma alternativa para aumentar o tempo de vida útil dos quimiossintéticos, e que estes passem a ser usados prioritariamente com caráter emergencial, e que, além de reduzir gastos e ser uma alternativa acessível para o produtor, proporciona melhor qualidade de vida e bem estar animal (Santana, 2015), ou seja, praticando desenvolvimento ecológico sustentável.

A medicina fitoterápica baseia-se no uso de medicamentos obtidos a partir de plantas com princípios ativos diversos e eficazes no tratamento das doenças. A possibilidade de uma única formulação para o tratamento de determinada patologia evidenciou o surgimento de tratamentos alopáticos nas décadas de 1930 e 1940 (Bruning, 2012). Contudo, com a crescente preocupação de se praticar o desenvolvimento sustentável, tornou-se cada vez maior os estudos com uso de plantas medicinais no contexto da saúde humana e veterinária.

Os fitoterápicos são constituídos por compostos químicos naturais, que podem ser responsáveis por diversas ações, como efeitos antagônicos e/ou sinérgicos com outros medicamentos (Alexandre, 2017).

Existem diversos relatos do uso de extrato de plantas contra parasitas, possuindo efeito repelente, ovicida, larvicida e inseticida, entre outros. A fitoterapia é caracterizada por ser um tratamento não invasivo ao meio ambiente, diferentemente dos medicamentos químico sintéticos, oferecendo tratamentos e métodos preventivos

alternativos a partir de plantas que podem ser produzidas na propriedade, e que consequentemente reduziria os custos com os medicamentos comumente e utilizados de forma indiscriminada e indevida na produção animal.

Este trabalho tem como objetivo realizar testes em larvas de *C. hominivorax in vitro*, utilizando o óleo essencial de *Cúrcuma longa* como efeito larvicida, analisando a eficácia do composto em diferentes concentrações, com objetivo de ser utilizado futuramente na produção animal, como um método alternativo aos compostos químiossintéticos.

2 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Produção de um preparado à base do óleo essencial do rizoma da planta *Curcuma longa*, seguido de avaliação *in vitro* do seu efeito larvicida sobre larvas em estágio pré pupas de *Cochliomya hominivorax*

3.2 Objetivos específicos

Produzir um óleo essencial a partir da raiz de plantas *Curcuma longa* através do método de hidrodestilação.

Preparar misturas contendo diferentes concentrações do óleo essencial produzido (5%, 10%, 15% e 20%) e surfactante Tween 80®.

Realizar testes de eficácia larvicida *in vitro* com as soluções produzidas e larvas em estágio de pré pupas de *Cochliomya hominivorax* oriundas de uma colônia laboratorial.

Analisar a eficiência do preparado como efeito larvicida das larvas em estágio pré pupas de *Cochliomya hominivorax*, em suas diferentes concentrações.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Miíases por *Cochliomyia hominivorax* em animais zootécnicos

A ordem Diptera faz parte de uma das maiores ordens de insetos e os animais presentes nela são abundantes tanto em indivíduos quanto em espécies (Brito et al, 2008).

A espécie *Cochliomyia hominivorax* caracteriza-se por ser um Diptero de médio a grande porte, apresentando cores azuladas, cobre e esverdeada, com caráter metálico. Apresenta em seu tórax três faixas longitudinais, e é conhecida popularmente como a “mosca da bicheira” (Teixeira, 2013).

A espécie *C. hominivorax* foi descrita em 1858, por Coquerel. Trata-se de uma mosca originária das américas, distribuindo-se do norte dos Estados Unidos da América, abrangendo até o limite do Chile, Uruguai, e Argentina (Veríssimo, 2003).

O termo miíase refere-se a infestação de larvas de dípteros, que em pelo menos uma fase da sua vida se alimentam dos tecidos vivos, ou até mesmo dos fluidos corporais do ser vivo parasitado (Ribeiro, 2001). A *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) é causadora de miíase primária de animais de sangue quente, onde a fêmea deposita seus ovos sobre alguma ferida ou lesão existente, danificando o couro, além de deixar o animal debilitado e possivelmente com perda de apetite, e em alguns casos, podendo levar os animais infestados à morte (Teixeira, 2013). Um caso apresentado por Veríssimo (2003) relata um ovino da raça Suffolk, aos 6 meses de idade manifestou miíase no ouvido esquerdo, em 17/02/1999, tratada com medicamento à base de organofosforado (Mata bicheiras Cooper Líquido® e Tanidil®). No dia seguinte, o animal apresentou quadro de febre alta e convulsão, levando à óbito. Na necropsia, foi detectado pus no ouvido esquerdo interno, além de apresentar larvas de *Cochliomyia hominivorax* mortas.

Figura 1- Miíase com larvas de *Cochliomyia homivorax* em dorso de ovino.



Fonte: Laboratório de Parasitologia Animal (UFSC), 2018.

O Brasil é um grande produtor de carne no mercado mundial, possuindo o maior rebanho comercial bovino do mundo (aproximadamente 191,2 milhões de cabeças), assim, busca-se a eficiência da produção, redução de custos, além de produtividade e lucratividade. Ectoparasitas de importância veterinária causam prejuízos significativos para a produção, seja por incomodo que causa no animal, ou pela ação espoliadora direta (Brito, 2008).

Um estudo realizado por Grisi et al, 2014, comprova que de uma natural ocorrência de 40,7% de bezerros afetados por miíase no umbigo causada pela *C. hominivorax*, 5,5% dos animais tratados continuaram apresentando miíase, causando perdas por mortalidade de aproximadamente U\$ 310,55 milhões, considerando sua importância em diversas regiões produtoras pelo país.

Em meados do século XX nos Estados Unidos da América e na América Central, foi realizado um programa de erradicação através da técnica do inseto estéril. A técnica foi primeiramente idealizada pelo entomologista Edward F. Knipling, onde viu a necessidade da erradicação da *C. hominivorax* por causar danos consideráveis na produção de bovinos da América do Norte (Mastrangelo, 2011). Durante três anos, com nove meses de liberação do inseto estéril, a um custo de aproximadamente U\$ 78 milhões, a técnica obteve sucesso e, com a ajuda de pesquisadores, produtores e o governo federal, foi possível realizar programas de erradicação da mosca nos países da América Central, como México, Costa Rica, Honduras e Nicarágua (Teixeira, 2013).

3.2 Fitoterapia

Sabe-se que o uso de inseticidas sintéticos como tratamento de ectoparasitas, é utilizado mundialmente (SUKONTASON, 2004). No entanto, o uso indiscriminado de inseticidas pode trazer consequências como a resistência do inseto ao ser exposto a droga, e a agressividade do composto no meio ambiente.

A fitoterapia surge como uma forma de tratamento alternativo com reconhecido potencial inseticida (Deleito, 2008), onde os produtos podem apresentar baixa ou nenhuma toxicidade à saúde humana.

A utilização de plantas medicinais com finalidade terapêutica é antiga, e está ligada desde o início da cultura popular (Santos, 2015). Já no Brasil, o uso de plantas medicinais é relacionado ao povo indígena, e que posteriormente foi incorporado pelos europeus vindos da colônia (Barreto, 2011).

Seugling et al (2018), formulou um medicamento fitoterápico a partir de nanoemulsão de *Baccharis dracunculifolia* (ASTERACEAE), onde concentrações acima de 13,5% do óleo, demonstraram ação larvicida em mais de 80% das pré pupas de *Cochliomyia hominivorax*.

Um estudo realizado por Dias (2014), mostrou que na comunidade Igrejinha, no município de Araçuaí, os produtores pouco empregam as plantas medicinais com finalidade terapêutica e preventiva na produção animal, apesar de reconhecerem que muitas espécies nativas apresentam benefícios para o tratamento de enfermidades.

As plantas podem oferecer inúmeros complexos ativos, e podem ser extraídos a partir de brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira e a casca (Chaaban, 2018).

Um estudo (Broglio-Michelett, 2010) mostrou maior eficácia do extrato da semente em relação ao óleo emulsionável da planta *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em laboratório, ocasionando menor taxa de eclosão dos ovos, além de uma maior eficiência do produto. Portanto, é importante que os produtores tenham conhecimento do potencial brasileiro em produzir fitoterapias para o tratamento de enfermidades, pois trata-se de um país com excelente biodiversidade de plantas.

Silva et al (2013) mostra as diferentes espécies vegetais utilizadas para o tratamento de animais de produção em assentamentos rurais de Seropédica, onde é possível identificar que as principais plantas utilizadas possuem efeito anti-helmíntica (36,58%), anti-inflamatória (17,07%), e repelente (12,19%), tornando uma prática vantajosa, principalmente pelo fácil acesso (podendo ser cultivado na propriedade) e consequentemente pelo baixo custo.

3.3 *Curcuma longa*

Trata-se de uma planta da família Zingiberaceae, nativa originalmente do Sudeste da Ásia e continente Indiano, mas que, por se tratar de uma planta de clima tropical, desenvolve-se bem no Brasil.

Experimentos mostram atividades antioxidantes e antimicrobianas, além de possuir substâncias curcuminoides, como por exemplo a curcumina (Prunthi, 1980). Os autores tem discutido a base molecular da curcumina com ação antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano e anticarcinogênico (Grasso, 2017).

Chaaban et al (2018) mostrou em experimento eficácia larvicida a partir de óleo essencial das folhas de *Curcuma longa* e α -phandandrene, apresentando-se como um bom produto ecológico para o controle da praga. Já Pereira et al (2016) relatou que não houve diferença estatisticamente significativa sobre a eficácia do pó do rizoma de *Curcuma longa* em larvas de *Aedes aegypti*, quando comparado ao tratamento controle negativo.

Frente ao desafio, espera-se que o preparado a partir do óleo essencial cause efeito tóxico às larvas de *Cochliomyia hominivorax*.

4 METODOLOGIA

4.1 Criação dos *C. hominivorax* em laboratório

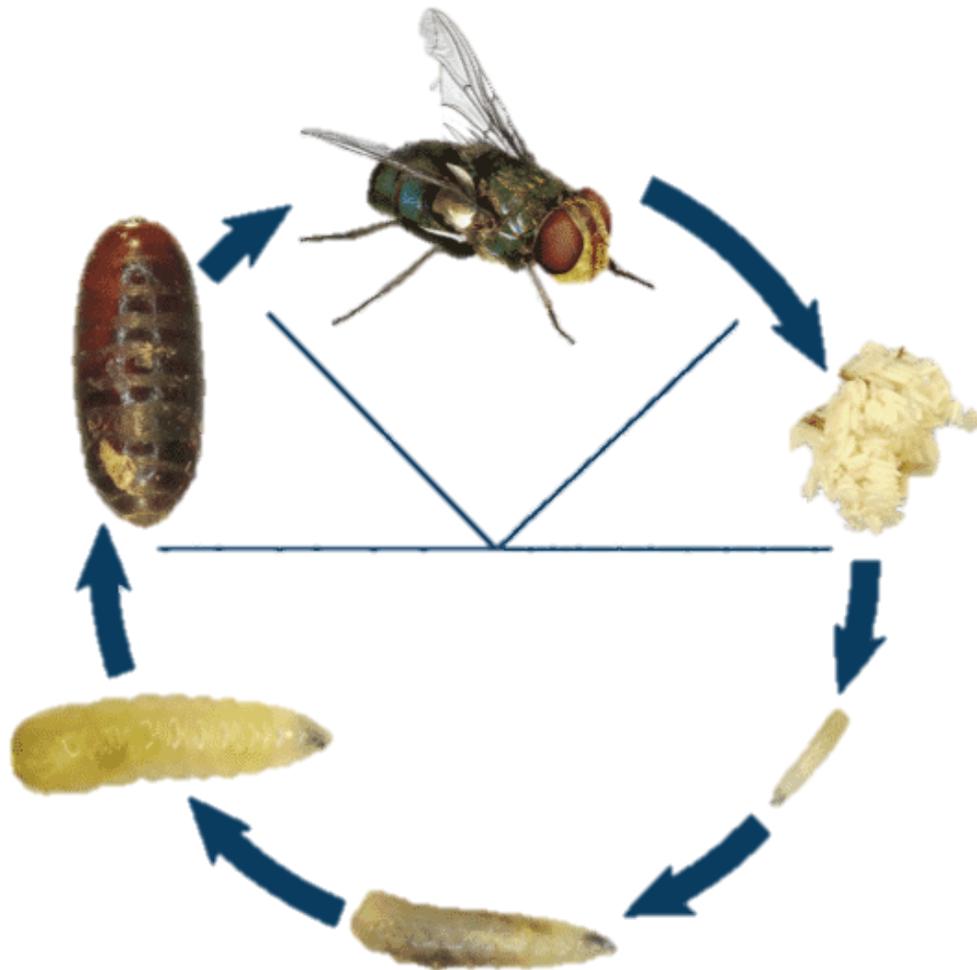
A colônia de moscas da espécie *Cochliomyia hominivorax* encontra-se no Laboratório de Parasitologia Animal, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis, SC. Os dípteros adultos eram mantidos em gaiolas de estrutura de metal, em ambiente controlado com temperatura entre 28°C e 33°C e umidade de 65% ($\pm 10\%$) (Seugling, 2018). Era disponibilizado dentro da gaiola dos insetos adultos água em pano umedecido e fonte de açúcar (rapadura em barra) para alimentação dos insetos.

Os ovos fecundados eram depositados em carne moída fresca, juntamente com dieta líquida constituída de sangue, leite e ovos em pó. Posteriormente, após a eclosão dos ovos, as larvas eram depositadas em uma recipiente contendo mistura de carne fresca e dieta líquida. Este dispositivo possuía abertura modificada feita com tule para garantir a entrada/saída de ar.

Ao atingir o estágio pré-pupa, conforme mostra a Figura 2, as larvas foram coletadas e separadas em frascos de vidro higienizados e fechados com tule, contendo vermiculita estéril. Os frascos foram mantidos em incubadora B.O.D com temperatura e umidade controlada (27°C e 60%) até a emergência do inseto.

Na fase de desenvolvimento de L1 até L3, a criação das larvas produz intenso odor característico.

Figura 2- Ciclo completo do inseto.

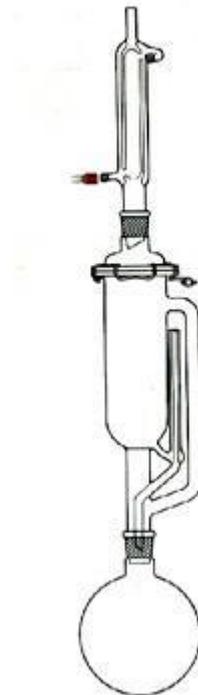


4.2 Extração do óleo essencial da raiz de *Curcuma longa*

A etapa de preparação do produto foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Morfofisiologia Animal, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis, SC.

Para a extração do óleo, a raiz da planta *Curcuma longa* foi adquirida na região de Biguaçu, SC, advinda de produção orgânica. Após a aquisição, foi realizado o processo de secagem do material, para que o teor de umidade não interferisse no rendimento do óleo essencial. Posteriormente, o material foi triturado. O método de extração ocorreu através do aparelho Clevenger, representado na Figura 3, e que segundo Loregian (2013), trata-se de um método de hidrodestilação para produção em laboratórios em pequenas escalas, e que sua funcionalidade consiste na separação dos componentes devido à diferença da pressão de vapor.

Figura 3- Aparelho de Clevenger.



Fonte: Silva (2005)

A raiz triturada foi introduzida no balão juntamente com 200mL de água destilada, onde ocorreu o processo de aquecimento através de uma manta, fazendo que o solvente evapore, entrando em contato com o condensador e mude de forma física, tornando-se um líquido. Após a extração, o óleo foi coletado e armazenado em vidro âmbar no freezer em temperatura de -80 °C.

Após extraído, o óleo foi misturado com o emulsificante (Tween® 80) para atuar como um agente dispersante para a solução final ajudando na solubilização do produto. O óleo foi introduzido na mistura nas quantidades de 0,3 ml, 0,6 ml, 0,9 ml, e 1,2 ml, respectivamente.

Desta forma a solução final se encontrou nas concentrações 5%, 10%, 15% e 20% de óleo essencial da raiz de *Curcuma longa*.

4.3 Testes de eficácia larvicida *in vitro*

Foram usadas 525 larvas de *C. hominivorax* em estágio pré-pupa, divididos em grupos de cinco repetições cada. Os grupos tratamento se deram em função da concentração do óleo: 5%, 10%, 15% e 20%. Já os grupos controle negativo foram: água, grupo nenhuma substância e grupo Tween 80. O grupo controle positivo recebeu o inseticida quimiossintético Triclorfon, que é comumente utilizado no controle e tratamento de miíases dos animais zootécnicos. Cada frasco contendo 15 larvas selecionadas ao acaso, com papel filtro no fundo do frasco para aumentar a área de absorção do preparado.

Ao fim do teste, todos os frascos foram tampados com tecido tule, armazenados em estufa com temperatura e umidade controladas de 27 °C com umidade superior a 60%, em incubadora BOD, proporcionando condições ambientais ideais para que a larva complete seu ciclo.

Após o nascimento do inseto (ao nono dia), foi realizada a contagem de pupas e classificada em duas categorias: inseto adulto emergido ou larva/pupa morta.

4.4 Análise estatística

O delineamento experimental que foi utilizado no presente projeto de pesquisa foi do tipo completamente casualizado (DCC). A unidade experimental (UE) foi considerada como sendo o frasco de teste contendo 15 larvas de *C. hominivorax* e recebendo um dos tratamentos experimentais já descritos. Inicialmente as informações de cada uma das UE foram tabuladas em uma planilha do programa Excel® versão 2016. Neste documento foram incluídos os valores da taxa de mortalidade de larvas de *C. hominivorax* ocorrida em cada uma das UE segundo o

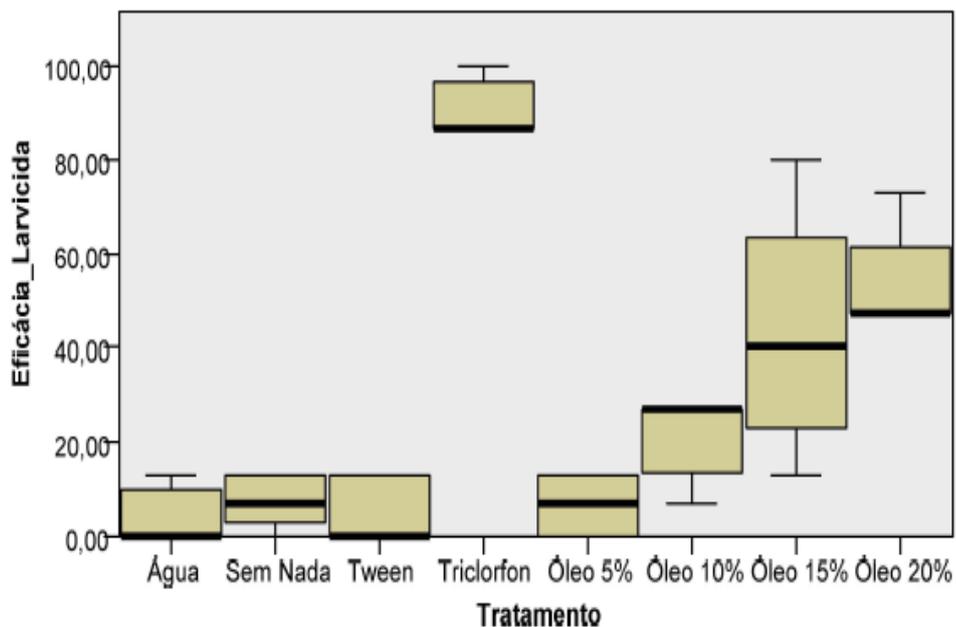
tratamento experimental executado. O presente estudo avaliou a eficácia larvívica de diferentes concentrações de um mesmo extrato fitoterápico e desta forma, como teve os pré-requisitos matemáticos atendidos, possibilitou a construção de uma Regressão Estatística com os dados obtidos após o desenvolvimento dos testes de eficácia larvívica. Supõem-se que a variável mortalidade larval de *C. hominivorax* se comporte de forma diretamente dependente da variável concentração do extrato fitoterápico testado na presente pesquisa. O software IBM SPSS Statistics® versão 20 foi utilizado como suporte na análise estatística dos dados. Inicialmente os resíduos dos dados referentes a eficácia larvívica foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk (Shapiro, 1965) para avaliar a sua aderência a distribuição normal, que é um dos pré-requisitos fundamentais para que a Análise de Variância (ANOVA) e construção de uma Regressão Estatística possam ser executadas posteriormente. Os resíduos dos dados também foram submetidos ao teste de Levene (Levene, 1960) com o objetivo de testar se existia homogeneidade entre as variâncias dos tratamentos experimentais (homocedasticidade), que também é um dos pré-requisitos fundamentais para que a Análise de Variância e construção de uma Regressão Estatística possam ser executadas posteriormente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial à base da raiz de *Curcuma longa* desenvolvido no presente estudo apresentou efeito larvicida sobre as larvas de *Cochliomyia hominivorax*.

Os grupos água, sem substância, Tween 80 e Triclorfon corroboram com o intuito do experimento, significando os controles negativo e positivo, respectivamente. As taxas de mortalidade demonstram um crescente valor em relação à concentração do óleo, tendenciando aumento da taxa de mortalidade em maiores concentrações, formando uma regressão linear. Levando em conta o preço para a produção do preparado de *Curcuma longa*, o produto possuindo concentração acima de 15% na formulação, apresentará eficiência e representará um bom tratamento alternativo aos convencionais. Como exposto a seguir no Gráfico 01.

Gráfico 1- Análise da mortalidade das pré pupas de *C. hominivorax* após aplicação do óleo de *Curcuma longa* nas concentrações 5%, 10%, 15% e 20%, além do controle negativo (água, sem substância e Tween 80), e controle positivo (Triclorfon).



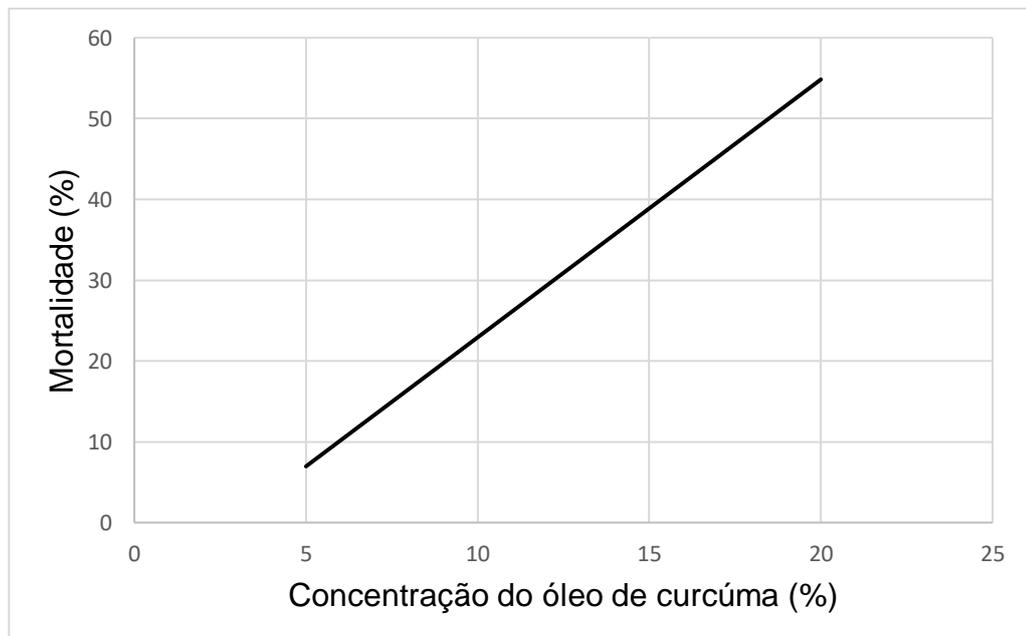
A regressão linear simples mostrou que a concentração do óleo de cúrcuma pode prever a taxa de mortalidade de larvas de *C. hominivorax* em situação *in vitro* [$F(1,18) = 32,921$ $p < 0,001$; $R^2 = 0,647$].

A mortalidade de larvas de *C. hominivorax* corresponde a $-9 + 3,192 * (\text{concentração do óleo de cúrcuma})$, estando a ambas as variáveis em porcentagem.

Algumas anormalidades foram detectadas principalmente nas maiores concentrações do óleo. Foi detectado algumas pupas como se estivessem desidratadas, e que conseqüentemente, não eclodiram. Outro fenômeno anormal observado foi uma eclosão não completa do inseto, observado também em Seugling et al (2018), onde o animal não consegue desprender da pupa, além de diminuição significativa de tamanho, e que conseqüentemente, entrou no grupo de mortalidade.

Os resultados obtidos são extremamente importantes, e criam uma tendência para que outros estudos em diferentes concentrações do óleo essencial da raiz de *Curcuma longa* tragam resultados positivos para a ciência, e para a solução da problemática, conforme demonstrado no Gráfico 2.

Gráfico 2- Mortalidade de pré pupas de *C. hominivorax*.



A regressão linear simples mostrou que a concentração do óleo de cúrcuma pode prever a taxa de mortalidade de larvas de *C. hominivorax* em situação *in vitro* [F(1,18)=32,921 p<0,001; R²=0,647].

6 CONCLUSÃO

- O óleo essencial 15% e 20% do rizoma da planta *Curcuma longa* mostrou efeito larvicida moderada.
- Conforme a Figura 2, o resultado apresentou uma regressão linear que abre espaço para novas pesquisas nas diferentes concentrações do óleo essencial do rizoma da planta.
- Os grupos Agua, Sem substancia e Tween 80[®] não apresentaram mortalidade de larvas, corroborando com efeito larvicida unicamente do óleo essencial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-BRANCO, F. P. J.; PINHEIRO, A. C.; SAPPER, M. F. M. VALE A PENA RELEMBRAR AOS CRIADORES DE BOVINOS O Controle da Mosca das Míases ou Bicheiras (*Cochliomyia hominivorax*). **Comunicado Técnico Embrapa**, p. 1–2, 2001.

BARRETO, Benilson Beloti. **Fitoterapia na Atenção Primária à Saúde – a visão dos profissionais envolvidos**. Orientador: Prof^a Dr^a Rita de Cássia Padula Alves Vieira. 2011. 94 f. Dissertação (Saúde Coletiva da Universidade Federal de Juiz de Fora) - Mestrado, Piracicaba, 2011.

BERALDO, M. et al. Avaliação in vitro da ação de extratos vegetais contra larvas de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*. **Anais da II Jornada Científica - Embrapa São Carlos**, 2010.

BRITO, Luciana Gatto. Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteras de interesse veterinário em laboratório. *In: Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteras de interesse veterinário em laboratório*. ISSN 0103-9865. 125. ed. [S. l.]: Embrapa, Setembro 2008.

BRUNING, Maria Cecilia Ribeiro. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 10, 12 nov. 2019.

CHAABAN, Amanda. Cuticular damage of *Lucilia cuprina* larvae exposed to *Curcuma longa* leaves essential oil and its major compound α -phellandrene. **Data in Brief**, [s. l.], v. 21, p. 1776-1778, Dezembro, 2018.

DIAS, Ivoneth. Saber popular: Uso de Plantas Medicinais na Produção Animal como uma Alternativa Agroecológica. **Fepeg**, Disponível em: <http://www.fepeg2014.unimontes.br/sites/default/files/resumos/arquivo_pdf_ais/resumo_-_plantas_medicinais_na_producao_animal.pdf>, 2011.

DUARTE, Eduardo R. Ocorrência e tratamento de miíases cutâneas em ovinos criados em condições semiáridas no norte de Minas Gerais. **Pesq. Vet. Bras.**, [S. l.], v. 32, p. 490-494, junho, 2012.

GRASSO, Eliane da Costa. AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA DE Curcuma longa L. (ZINGIBERACEAE). **Revista Eletrônica Thesis**, São Paulo, ano XIV, ed. 28, p. 117-129, 23 out. 2019.

GRISI, Laerte. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil: Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. **Braz. J. Vet. Parasitol**, Jaboticabal, ano 2014, v. 23, n. 2, p. 150-156, abr.-jun. 2014.

LEVENE, Howard. Contributions to probability and statistics. Essays in honor of Harold Hotelling, p. 278-292, 1960.

LOREGIAN, André. COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DO HORTO DE PLANTAS MEDICINAIS DO GRUPO PET. **AGRONOMIA UTFPR - PATO BRANCO**, Pato Branco. 2019. PONTES, J. Barrientos. Projeto demonstrativo de controle e possível erradicação da mosca da bicheira. **A Hora Veterinária**, [s. l.], ano 29, ed. 171, 2009.

MANUAL de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteros de interesse veterinário em laboratório. ISSN 0103-9865 Setembro, 2008, **Embrapa**, p. 25 p., 5 set. 2008.

MASTRANGELO, T. A. **Metodologia de produção de moscas estéreis de Cochliomyia hominivorax (Coquerel,1958) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2011.

MICHELETTI, Sônia. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Rev. Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, ed. 1, p. 44-48, 2010.

MOYA BORJA, Gonzalo E. Erradicação ou manejo integrado das míases neotropicais das Américas? **Pesq. Vet. Bras.**, v. 23, p. 131-138, set. 2003.

PEREIRA, Loreany. A INFLUÊNCIA DO AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) NO CONTROLE BIOLÓGICO DA DENGUE. **Getec**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 46-56, 14 set. 2016.

Pruthi. J. S. "Spices and Condiments: Chemistry, Microbiology and Technology". 1st Edn. Acad Pess Inc., New York, USA. 1980. 450p.

RIBEIRO, Fernando A. Q. Tratamento da miíase humana cavitária com ivermectina oral: Treatment of human cavitary myiasis with oral ivermectin. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.** São Paulo, v. 67, n. 6, nov. 2001.

SANTANA, Débora Correia. USO DE PLANTAS MEDICINAIS NA CRIAÇÃO ANIMAL. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, ed. 22, p. 241, 2015.

SEUGLING, Jaqueline. DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO DE *Baccharis dracunculifolia* (ASTERACEAE) E SUA ATIVIDADE LARVICIDA SOBRE PRÉ PUPAS DE *Cochliomyia hominivorax* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). **Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC**, [s. l.], 30 abr. 2018.

SHAPIRO, S. S. Shapiro-Wilk W test. *Biometrika*, v. 52, p. 591-611, 1965.

SUKONTASON, Kabkaew L. Efeitos do eucaliptol sobre a mosca doméstica (Diptera: Muscidae) e mosca varejeira (Diptera: Calliphoridae). **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo [online]**, Piracicaba, v. 46, n. 2, 2004.

TEIXEIRA, Denise Gonçalves. *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae): CARACTERÍSTICAS E IMPORTÂNCIA NA MEDICINA VETERINÁRIA *In*: TEIXEIRA, Denise Gonçalves. ***Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae): CARACTERÍSTICAS E IMPORTÂNCIA NA MEDICINA VETERINÁRIA, 2013**

TY - JOUR AU - Chaaban, Amanda AU - Gomes, Erik AU - Carvalho Silva Santos, Vera AU - Deschamps, Cicero AU - Molento, Marcelo PY - 2017/12/21 SP - 1 EP - 25 T1 - Essential Oils for Myiasis Control: Potentialities for Ecofriendly Insecticides VL - 21 DO - 10.9734/EJMP/2017/38112 JO - **European Journal of Medicinal Plants.**

VARGAS, M. **IMPACT OF SCREWWORM ERADICATION PROGRAMMES USING THE STERILE INSECT TECHNIQUE.** Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management, 629-650. 30 out. 2019.

VERÍSSIMO, C.J. MORTE DE RUMINANTES DEVIDO A INFECÇÃO NA ORELHA CONSEQÜENTE À MÍÍASE CAUSADA POR COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (COQUEREL, 1858). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.2, p.187-189, 2003.