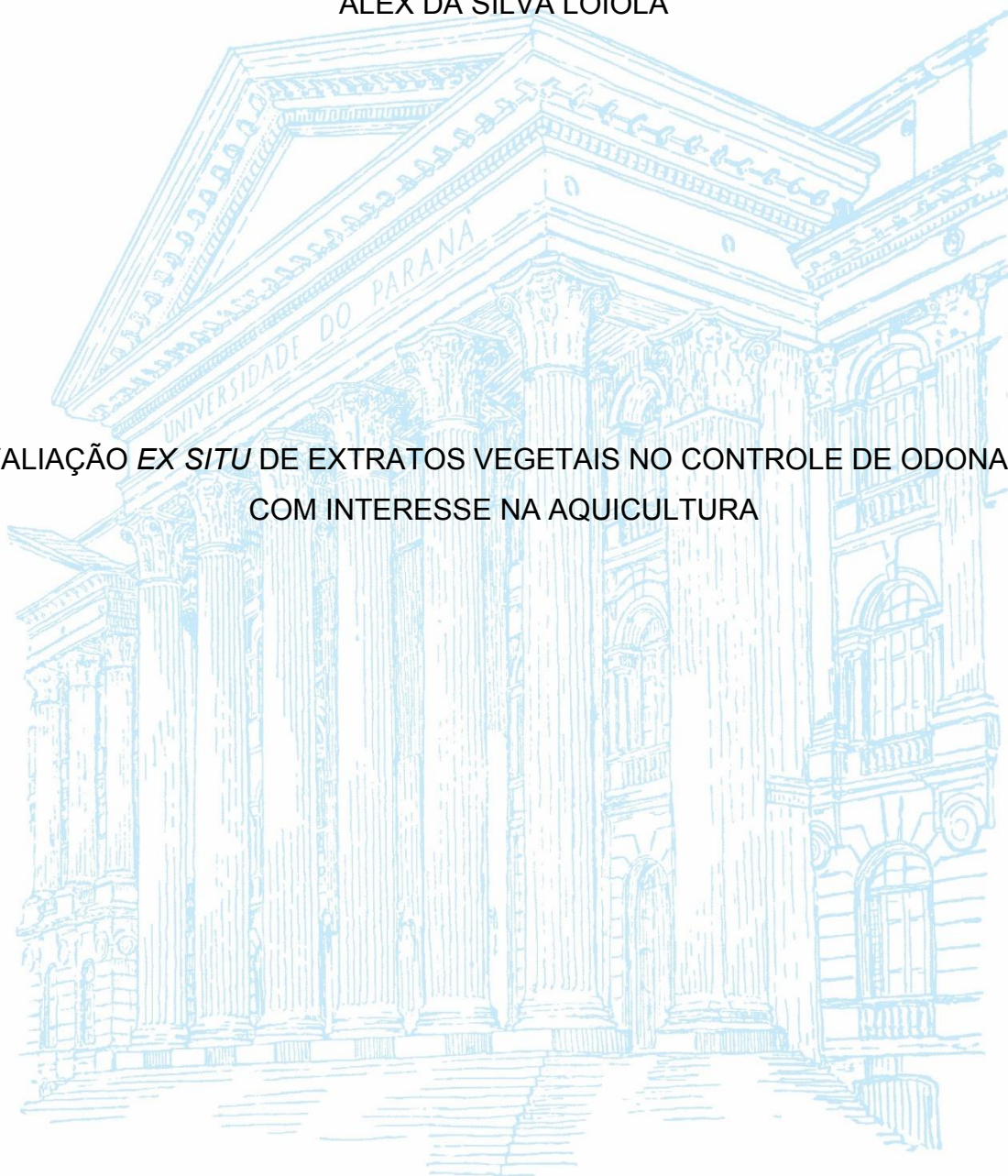


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALEX DA SILVA LOIOLA

AVALIAÇÃO *EX SITU* DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE ODONATA
COM INTERESSE NA AQUICULTURA



PALOTINA

2019

ALEX DA SILVA LOIOLA

AVALIAÇÃO *EX SITU* DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE ODONATA
COM INTERESSE NA AQUICULTURA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Aquicultura e desenvolvimento sustentável, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento sustentável.

Área de concentração: Produção de organismos aquáticos e impactos ambientais da atividade de Aquicultura

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lilian Dena dos Santos
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Lucíola Thais Baldan

PALOTINA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

L834 Loiola, Alex da Silva
Avaliação ex situ de extratos vegetais no controle de Odonata com interesse na aquicultura / Alex da Silva Loiola – Palotina, 2020.
65f.

Orientadora: Lilian Dena dos Santos
Coorientadora: Lucíola Thais Baldan
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

1. Aquicultura. 2. Bioinseticida. 3. Extratos naturais. 4. Larvicida. I. Santos, Lilian Dena dos. II. Baldan, Lucíola Thais. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDU 639



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AQUICULTURA E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - 40001016078P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de ALEX DA SILVA LOIOLA intitulada: **Avaliação ex situ de extratos vegetais no controle de Odonata com interesse na aquicultura**, sob orientação da Profa. Dra. LILIAN DENA DOS SANTOS, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 13 de Dezembro de 2019.



LILIAN DENA DOS SANTOS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



ANA TEREZA BITENCOURT GUIMARÃES

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ)



LUCÍOLA THAIS BALDAN

Coorientador - Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



ADMIR MANOEL CUNICO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe, Maria Alvandir da Silva, meu pai Ednilson Modesto Loiola, e a minha Irmã Aline da Silva Loiola pelo apoio, pelos conselhos e principalmente por acreditarem em mim. Tudo que estou conquistando e a pessoa que sou, devo a vocês.

Agradeço também a minha orientadora professora Dr.^a Lilian Dena dos Santos pela paciência, dicas, tempo dedicado, e pela oportunidade. A minha coorientadora Dr.^a Lucíola Thais Baldan pelo acolhimento em Palotina, paciência, e por sempre se preocupar com meu bem estar.

A todas as pessoas que compõem o programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável por fazerem parte e contribuírem para minha formação, a Universidade Federal do Paraná (UFPR Setor Palotina) pela oportunidade.

Aos meus amigos que acreditam e torcem por mim.

MUITO OBRIGADO!

Se o presente é de luta, o futuro nos pertence
(CHE GUEVARA)

RESUMO

Insetos, da ordem Odonata, podem ser encontrados em viveiros de aquicultura, causando grandes prejuízos. O controle desses animais vem sendo feito com uso de inseticidas químicos, entretanto essas substâncias podem causar prejuízos ao meio ambiente, sendo o uso de bioinseticidas uma saída para a sua substituição. Este trabalho tem como objetivo utilizar extratos das plantas *Azadirachta indica* (nim), *Melia azederach* (cinamomo), *Momordica charantia* (melão de São Caetano), no controle de Odonata e verificar sua toxicidade em alevinos de tilápia do Nilo. Para isso foram confeccionados extratos de folhas das três plantas coletadas no estado do Paraná. Esse material foi submetido à secagem, à temperatura de 40°C por 48 horas, trituradas e peneiradas à dois mm. Para obtenção dos extratos foram utilizados 21,8g desse material misturado em 125mL de solução hidroalcoólica, agitado por 24 horas, e filtrado por duas vezes totalizando 250mL. Foram realizados dois pré-ensaios para refinar as doses a serem testadas, e ao final foi realizado o ensaio definitivo de toxicidade aguda. Para o ensaio de toxicidade aguda em Odonata realizou-se diluições para cada um dos três extratos, sendo para o nim 0; 1,05; 1,09; 1,13; 1,18; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48 g/L; para o melão de São Caetano: 0; 0,61; 0,65; 0,70; 0,74; 0,78; 0,83; 0,87 g/L; e para o cinamomo: 0; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48; 1,53; 1,57; 1,61; 1,66 g/L. Todos tratamentos tiveram 10 repetições, totalizando 130 unidades experimentais (UE) para o nim, 80 para o melão de São Caetano e 160 para o cinamomo, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, sendo que cada UE consistia em um recipiente de vidro de 250 mL compostas de uma Odonata e 150 mL da solução. Os indivíduos foram monitorados a cada seis horas por 48 h, a cada verificação foram contabilizados os indivíduos mortos. Esse bioensaio foi repetido três vezes. Após o experimento, calculou-se as concentrações letais que provocaram mortalidade em 50% e 99% dos indivíduos em 24 e 48 horas usando o cálculo de probits. As concentrações letais para as Odonata do extrato mais eficiente (maior mortalidade em menores concentrações), o melão de São Caetano, foram testadas para alevinos de tilápia do Nilo durante um período de 21 dias. Para isso, 80 alevinos com 2 a 3 g foram submetidos à essas concentrações. As concentrações letais de extrato de nim para as Odonata em 24 horas foram: $CL_{50}(24h)=1,45$, e $CL_{99}(24h)=1,87$ g/L. Para um período de 48h a $CL_{50}(48h)= 1,29$ e $CL_{99}(48h)=1,2$ g/L. Para o extrato de cinamomo, a $CL_{50}(24h)$ foi de 1,57 e a $CL_{99}(24h)=1,87$ g/L, para o período de 48h as concentrações letais foram $CL_{50}(48h)=1,42$ e $CL_{99}(48h)=1,45$ g/L. As concentrações letais de melão de São Caetano foram: $CL_{50}(24h)= 0,76$; $CL_{99}(24h)= 1,08$; $CL_{50}(48h)=0,69$ e $CL_{99}(48h)=0,99$ g/L. Não foi verificada mortalidade dos alevinos durante o período do ensaio de toxicidade crônica, as brânquias dos peixes apresentaram baixo índice de lesões em concentrações mais baixas quando comparadas com as concentrações mais altas. Os três extratos, apresentaram potencial inseticida, contudo são necessárias altas concentração para provocar mortalidade nesses animais. O extrato de melão de São Caetano não apresentou toxicidade aos alevinos, e diminuiu os parasitas branquiais nos peixes, no entanto causou mais lesões em concentrações altas.

Palavras-chave: Aquicultura. Bioinseticida. Extratos naturais. Larvicida.

ABSTRACT

Insects, of the order Odonata, can be found in aquaculture tanks, causing great damage. The control of these animals has been done with the use of chemical insecticides, however these substances can cause damage to the environment, and the use of bioinsecticides is an outlet for their replacement. This work aims to use extracts from the plants *Azadirachta indica* (nim), *Melia azederach* (cinamomo), *Momordica charantia* (melão de São Caetano), in the control of Odonata and verify its toxicity in Nile tilapia fry. For that, leaf extracts from the three plants collected in the state of Paraná were made. This material was subjected to drying at a temperature of 40 ° C for 48 hours, crushed and sieved at two mm. To obtain the extracts, 21.8g of this material were used, mixed in 125mL of hydroalcoholic solution, stirred for 24 hours and filtered twice, totaling 250mL. For the acute toxicity test in Odonata, dilutions were made for each of the three extracts, with neem: 0; 1,05; 1,09; 1,13; 1,18; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48 g/L, Bitter melon: 0; 0,61; 0,65; 0,70; 0,74; 0,78; 0,83; 0,87 g/L, and for chinaberry: 0; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48; 1,53; 1,57; 1,61; 1,66 g/L. All treatments had 10 replications, totaling 130 experimental units for neem, 80 for Bitter melon and 160 for chinaberry, distributed in a completely randomized design, each UE consisted of a 250 mL glass container composed of one Odonata and 150 mL of the solution. Subjects were monitored every six hours for 48 h, at each check dead individuals were counted. This bioassay was repeated three times. After the experiment, lethal concentrations that caused mortality in 50% and 99% of individuals at 24 and 48 hours were calculated using the calculation of probits. Lethal concentrations for the most efficient extract Odonata were tested for tilapia fingerlings over a period of 21 days, so 80 fingerlings with 2 to 3 g were submitted to these concentrations. Lethal concentrations of Neem extract to Odonata at for 24 hour period were: $LC_{50}(24h)=1,45$ and $LC_{99}(24h)=1,87$ g/L. For a period of 48h at $LC_{50}(48h)=1,29$ e $LC_{99}(48h)=1,2$ g/L. For cinnamom extract, $LC_{50}(24h)$ was 1,57 and $LC_{99}(24h)=1,87$ g/L, for the 48h period lethal concentrations were $LC_{50}(48h)= 1,42$ e $LC_{99}(48h)=1,45$ g/L. The lethal concentrations of São Caetano melon were: $CL_{50}(24h)=0,76$; $LC_{99}(24h)=1,08$; $LC_{50}(48h)=0,69$ e $LC_{99}(48h)=0,99$ g/L. No fingerling mortality was observed during the chronic toxicity test period, the fish gills had a low rate of injury at lower concentrations when compared to the highest concentrations. The three extracts showed potential insecticide, however high concentrations are necessary to cause mortality in these animals. São Caetano melon extract showed no toxicity to fingerlings, and decreased gill parasites in fish, however caused more lesions at high concentrations.

Keywords: Aquaculture. Bioinsecticide. Natural extracts. Larvicide.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DE AZADIRACTINA (C₃₅ H₄₄ O₁₆), COMPOSTO PRESENTE NO NIM (*Azadirachta indica* A.JUSS.).
- FIGURA 2 - *Azadirachta indica* (A), *Melia azedarach* (B) E *Momordica charantia* (C) COLETADAS EM PALOTINA, ESTADO DO PARANÁ.
- FIGURA 3 - FOLHAS DAS PLANTAS APÓS A TRIAGEM (A), E FOLHAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE VENTILAÇÃO FORÇADA, À TEMPERATURA DE 40°C, DURANTE UM PERÍODO DE 48 HORAS, ATÉ QUE ATINGISSEM MENOS DE 10% DE UMIDADE (B).
- FIGURA 4 - (A) E FOLHAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE VENTILAÇÃO FORÇADA ANTES DE PASSAR PELO PROCESSO DE TRITURAÇÃO; (B) FOLHAS TRITURADAS E PENEIRADAS (2 MM).
- FIGURA 5 - PESAGEM (A), AGITAÇÃO(B) FILTRAGEM (C) E ARMAZENAGEM DOS EXTRATOS ALCOOLICOS DE *Azadirachta indica* (A), *Melia azedarach* e *Momordica charantia* COLETADAS EM PALOTINA ESTADO DO PARANÁ.
- FIGURA 6 - ODONATA COLETADAS NO CAMPUS AVANÇADO JANDAIA DO SUL (UFPR) NO PERÍODO DE ABRIL A MAIO DE 2019 (A), RECIPIENTES USADOS NO TESTE DE TOXICIDADE AGUDO EM ODONATA (B), TELAS USADAS PARA EVITAR QUE AS ODONATA ESCAPEM DOS RECIPIENTES (C).
- FIGURA 7 - ALEVINOS DE TILÁPIA USADOS NO EXPERIMENTO (A), RECIPIENTES USADOS NO TESTE DE TOXICIDADE CRONICO (B).
- FIGURA 8 - CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS DE NIM, CINAMOMO E MELÃO DE SÃO CAETANO, E MORTALIDADE DAS ODONATA PARA O SEGUNDO PRE ENSAIO DE TOXICIDADE.
- FIGURA 9 - PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B), CINAMOMO 24(C) E 48 HORAS (D) E MELÃO DE SÃO CAETANO 24(E) E 48 HORAS (F).
- FIGURA 10 - GRÁFICO DOSE – RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B).
- FIGURA 11 - DOSE –RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE CINAMOMO EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B) INDICANDO A CL50.
- FIGURA 12 - DOSE – RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE MELÃO DE SÃO CAETANO EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B), INDICANDO A CL50.
- FIGURA 13 – MÉDIA DOS PESOS (g) (MÉDIA±DP) DOS ALEVINOS DE TILAPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRONICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L.
- FIGURA 14 - MÉDIA DO ÍNDICE ORGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS DOS ALEVINOS DE TILAPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRONICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L.

FIGURA 15 - MÉDIA DO ÍNDICE ÓRGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS, E PESO (MÉDIA±DP) DOS ALEVINOS DE TILÁPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRÔNICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L. NA ÚLTIMA SEMANA DE EXPERIMENTO.

FIGURA 16 - IMAGEM-1; SETA INDICANDO UM PARASITA BRANQUIAL DA CLASSE MONÓGENA EM UM FILAMENTO BRANQUIAL (F), E LAMELAS BRANQUIAIS (L) DE UM PEIXE SUBMETIDO A CONCENTRAÇÃO 8/L CORRESPONDENTE A CL50(24H) DO E EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO, AUMENTO DE (10X, 40X). IMAGEM-2; INDICANDO UM PARASITA DA CLASSE MONOGENEA ENTRE DUAS LAMELAS, (10X, 10X) NO CONTROLE (SEM EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO). IMAGEM-3; HEMORRAGIA (H), AUMENTO DE (10X, 10X).

FIGURA 17 - MÉDIA DO ÍNDICE ÓRGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS, E FREQUENCIA DE OCORRENCIA (FO%) DE PARASITA NAS BRANQUIAS DOS ALEVINOS DE TILÁPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRÔNICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L. NA ÚLTIMA SEMANA DE EXPERIMENTO.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES DE CADA UM DOS TRÊS EXTRATOS UTILIZADOS NO ENSAIO DEFINITIVO COM ODONATAS.

TABELA 2 - TABELA DE REGRESSÃO DA ANÁLISE DE PROBITOS CORRELACIONADO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM, CINAMOMO E MELÃO DE SÃO CAETANO EM RELAÇÃO A MORTALIDADE DE ODONATA, ONDE ESTÁ EXPRESSO OS COEFICIENTES B_0 E B_1 DA EQUAÇÃO DE PROBITOS $G(\pi) = B_0 + B_1 \cdot X_i$, O ERRO PADRÃO, Z CALCULADO E P.

TABELA 3 - TABELA DE TESTE DE QUALIDADE DE AJUSTES DA ANÁLISE DE PROBITOS DOS DADOS DAS CONCENTRAÇÕES DE NIM, CINAMOMO E MELÃO DE SÃO CAETANO EM RELAÇÃO A MORTALIDADE DE ODONATA, ONDE GP REPRESENTA OS GRAUS DE LIBERDADE.

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

CL50 - Concentração letal para 50 por cento dos indivíduos

CL99 - Concentração letal para 99 por cento dos indivíduos

PROBITS - Probabilidade + unit

IC - Intervalo de confiança

ICS - Intervalo de confiança superior

ICI - Intervalo de confiança inferior

g/L- Mililitro por litro

W - Watt unidade de potência

°C - Grau Celsius ou centígrado

m - Metros

cm - Centímetros

OD - Oxigênio dissolvido

pH - Potencial hidrogeniônico

DP - Desvio padrão

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

Σ - Somatório de números

\pm - Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo geral	18
1.1.2	Objetivos específicos.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	A ORDEM ODONATA	18
2.2	ODONATA E PREJUÍZOS A AQUICULTURA	19
2.3	CONTROLE DE ODONATA	20
2.4	INSETICIDAS NATURAIS	21
2.4.1	Nim (<i>Azadirachta indica</i> A.Juss.).....	22
2.4.2	Cinamomo (<i>Melia azedarach</i> L.).....	24
2.4.3	Melão de São Caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	CONFEÇÃO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS.....	28
3.2	PRÉ-ENSAIOS E ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA EM ODONATA.....	30
3.3	ENSAIO DE TOXICIDADE CRÔNICA EM ALEVINOS DE TILÁPIA	33
3.4	HISTOLOGIA.....	35
3.5	ESTATÍSTICA	36
4	APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
5	DISCUSSÃO	46
5.1	EFEITO DO EXTRATO DE NIM SOBRE AS NINFAS DE ODONATA	46
5.2	EFEITO DO EXTRATO DE CINAMOMO SOBRE AS NINFAS DE ODONATA.....	48
5.3	EFEITO DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO SOBRE AS NINFAS DE ODONATA.....	49
5.4	EFEITO DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO SOBRE OS ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO	50
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
7	REFERÊNCIAS.....	51
8	ANEXO.....	63

1 INTRODUÇÃO

Os estágios larvais de vários insetos são encontrados em viveiros da aquicultura e podem incluir vários táxons, dentre eles: Odonata, Coleoptera, Hemiptera, Plecoptera (AJIBADE; AJANI; OMITOYIN, 2017; YAPO; ATSÉ; KOUASSI, 2013; ZIA et al., 2018). Os indivíduos da ordem Odonata podem acarretar em grandes prejuízos na piscicultura, uma vez que estes organismos podem promover altas densidades em tanques de larvicultura de peixes, levando à predação destes (TOMAZELLI et al., 2016).

As larvas de Odonata são predadoras generalistas, que se alimentam de uma ampla variedade de animais (BÜSSE; HÖRNSCHEMEYER; GORB, 2017; CORBET, 2002). Nos primeiros instares, a maioria das espécies se alimenta de pequenos invertebrados (DUDOVÁ; BOUKAL; KLECKA, 2019), e larvas maiores podem se alimentar de artrópodes, Chironomidae, girinos (SEMLITSCH, 1990) e alevinos de peixes (SOARES; HAYASHI; REIDEL, 2003). Esta heterogeneidade alimentar é proporcional ao tamanho das ninfas de Odonata que podem chegar a 62 mm (BLOIS, 1985; FULAN; HENRY, 2008).

A medida que as larvas crescem, os itens de presas individuais tornam-se maiores (SEMLITSCH, 1990), tornando esse animal muito voraz em viveiros de aquicultura (TOMAZELLI JÚNIOR et al., 2011). A densidade de larvas de Odonata, forma de predação e a taxas de predação em áreas fechadas podem ser maiores do que em águas abertas (VAN DE MEUTTER; STOKS; DE MEESTER, 2004). A alta mortalidade nas fases iniciais de cultivo, pode levar muitas vezes à inviabilização do empreendimento aquícola, e um dos principais problemas enfrentados pelos produtores é a predação dos peixes por insetos aquáticos. Sendo a predação, por vezes total, de pós-larvas e alevinos de peixes por Odonata (DELGADO; ALCÁNTARA; COUTURIER, 1995; SOARES; HAYASHI; REIDEL, 2003)

A forma mais eficiente de controle populacional dos insetos aquáticos na aquicultura, é feito pela aplicação de inseticidas químicos na água (GLUSCZAK et al., 2007). Entretanto, alguns produtos químicos têm efeito cumulativo e causam contaminação da água (BARISIC; CANNON; QUINN, 2019), podendo ocasionar danos aos ecossistemas aquáticos que recebem os efluentes dos tanques,

comprometendo a qualidade ambiental, além de representar risco aos consumidores (CHANDRA et al., 2017).

Os inseticidas químicos mais usados em aquicultura são da classe dos organofosforados e piretróides (JENSEN et al., 2017b), sendo despejados diretamente na água do tanque de cultivo (FONSECA et al., 2004). Embora este tipo de controle seja eficiente, é proibido em vários países, devido a contaminação da água e morte de parte do zooplâncton necessário como alimento para alevinos (HASAN et al., 2014). Piretróides sintéticos são o grupo mais tóxico de inseticida para peixes e fauna de invertebrado aquáticos (BUMROONGSOOK, 2018). Em humanos esses compostos, quando usados com frequência, podem causar doenças, como: alergias, dermatites, problemas na pele (BUMROONGSOOK, 2018), danos genéticos e câncer (WEBSTER; MCKENZIE; MORIARTY, 2002).

Dessa forma, com o objetivo de evitar e/ou reduzir o uso de inseticidas sintéticos na aquicultura, mas obtendo resultados igualmente eficientes no controle de insetos aquáticos, tem sido divulgado e pesquisado o uso de inseticidas naturais (WINKALER et al., 2007), que apresentem menor custo e causem menor impacto ambiental, além de serem biodegradáveis (KAMARAJ et al., 2010). Várias plantas apresentam propriedades inseticidas, sendo capazes de provocar inibição alimentar nos insetos, redução da motilidade, inibição da síntese de quitina, deformações em pupas e adultos, e mortalidade de formas imaturas e adultos (MORDUE e BLACKWELL, 1993).

Nessa vertente, o uso de inseticidas naturais é uma saída sustentável para o uso de inseticidas sintéticos (RAMANIBAI; VELAYUTHAM, 2015). Alguns compostos inseticidas presentes em plantas como nim (*Azadirachta indica*), cinamomo (*Melia azedarach*) e melão de São Caetano (*Momordica charantia*) são amplamente usados em agroecologia para combater diversos grupos de insetos terrestres, como Diptera, Lepidoptera, Heteroptera, Orthoptera (BATBYAL et al., 2007; GANDA et al., 2019; PASSERINI; HILL, 1993; ZANUNCIO et al., 2016).

Devido ao potencial de algumas substâncias naturais para o controle de insetos e os poucos danos que esses compostos trazem ao ambiente, esse trabalho

tem grande relevância, pois busca uma maneira eficaz de reduzir a mortalidade nas fases iniciais da aquicultura.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Esse trabalho tem como objetivo verificar o potencial bioinseticida de extratos vegetais, em larvas de Odonata (*Pantala flavescens*), que causam prejuízos em larviculturas, além de verificar seu efeito sobre alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração sub letal (CL50) e letal (CL99) em 24 e 48 horas, dos extratos vegetais em larvas de Odonata.
- Verificar por meio de teste de exposição aguda, qual dos extratos testados possui maior potencial bioinseticida para Odonata.
- Verificar se o extrato mais eficiente no teste agudo em Odonata, causa algum efeito tóxico em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A ORDEM ODONATA

Odonata é uma ordem de insetos cosmopolitas muito comuns, recebendo por essa razão distintos nomes, dentre eles; lava-bunda, libélula, jacinta, cavalo-de-judeu, cavalinho-do-diabo, zigue-zague e ciganinha (RAFAEL; DE MELO; DE CARVALHO, 2012). No Brasil foram descritas 856 das 6000 espécies registradas no mundo (BARBOSA et al., 2019; BORGES et al., 2019; SCHORR; PAULSON, 2019). Esses animais possuem ciclo de vida dividido em duas fases, sendo a fase imatura aquática e a adulta terrestre/aérea (DOS REIS et al., 2011). Suas larvas são encontradas em

ambientes lóticos e lênticos, e algumas espécies são fitotelmatas vivendo na água acumulada nas bainhas de folhas de bromélias e nos ocos de árvores (SORIANO; GUTIÉRREZ, 2007). Os adultos são voadores ativos, tipicamente diurnos, além de alguns crepusculares (SOUZA; COSTA; OLDRINI, 2007).

São considerados insetos hemimetábolos, ou seja, possuem metamorfose incompleta, não apresentando o estágio de pupa (PAULSON, 2019). O primeiro estágio do desenvolvimento larval é, a de pró-larva, posteriormente, a larva jovem seguido de 8 a 15 mudas, antes de deixar a água e emergir como adulto (CORBET, 2002). A fase larval é relativamente longa, sendo que a maioria das espécies se desenvolvem em três anos ou menos (CORBET, 1962).

Várias espécies são conhecidas por se reproduzirem em sistemas de água salobra (SORIANO; GUTIÉRREZ, 2007; ZIA et al., 2018). No entanto, algumas possuem adaptações morfológicas e fisiológicas associadas à estrutura do habitat para sobreviver quando as condições ambientais não são favoráveis, podendo entrar em um período de dormência espontânea (diapausa), com interrupção das atividades de desenvolvimento (CORBET, 2002). A maior parte do ciclo de vida de Odonata é gasto como larva em ambiente aquático, o tempo de incubação dos ovos varia de apenas alguns dias a vários meses, dependendo da latitude e das espécies (HECKMAN, 2008).

2.2 ODONATA E PREJUÍZOS A AQUICULTURA

Os estágios larvais de vários insetos são encontrados em viveiros de aquicultura e podem incluir táxons Odonata, Coleoptera, Hemiptera, Plecoptera entre outros (AJIBADE; AJANI; OMITOYIN, 2017; YAPO; ATSÉ; KOUASSI, 2013; ZIA et al., 2018). Dentre estes, os indivíduos da ordem Odonata podem acarretar grandes prejuízos na piscicultura, uma vez que estes insetos podem ocorrer em altas densidades em tanques de larvicultura de peixes, promovendo grande predação e levando a perda da produção (TOMAZELLI et al., 2016)

As larvas de Odonata são carnívoras e possuem um ciclo de vida associado a corpos d'água (CUÉLLAR-CARDOZO; JARAMILLO; CASTRO-REBOLLEDO, 2018), são também predadoras generalistas, que se alimentam quase de qualquer

tipo de animal que seja de tamanho apropriado para o seu tamanho (CORBET, 2002), tornando esse animal muito voraz em viveiros de aquicultura, podendo preda alevinos e pequenos peixes (HECKMAN, 2008). Nestes locais a densidade de larvas de Odonata, a forma e a taxa de predação em áreas fechadas podem ser maiores do que em águas abertas (VAN MEUTTER; COTTENIE; DE EESTER, 2008).

Dentre as espécies de Odonata citadas na literatura que causam prejuízos econômicos à piscicultura temos *Acantharion* sp., *Aphylla theodorina*, *Brachymesia furcata*, *Micrathyria hesperis*, *Pantala flavescens*, *Perithemis mooma*, *Orthemis* sp (FERREIRA-PERUQUETTI; FONSECA-GESSNER, 2003; FONSECA et al., 2004; YAPO; ATSÉ; KOUASSI, 2013).

Segundo Santos; Costa; Pujol-luz (1988), um viveiro de piscicultura pode registrar uma densidade de 80 ninfas de Odonata/m². Delgado; Alcántara; Couturier (1995) registrou entre 22 a 415 Odonata/m² variando ao longo do ano em um viveiro de cultivo de *Colossoma macropomum* na Amazônia Peruana.

Ninfas de *Pantala* sp. (Libellulidae) apresentaram taxas de predação relativamente altas, conforme estudo realizado por soares; Hayashi; Reidel (2003), observaram que indivíduos com comprimento entre 3 e 25 mm consumiram em média até 35,24 larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*) por dia. De acordo com os mesmos autores essa predação é proporcional ao tamanho da Odonata, sendo 24,62 mm o tamanho de *Pantala* que alcançou o pico de predação. Ninfas de libélula consumiram até três alevinos de *Oreochromis mossambicus* por dia em um trabalho realizado por Tave; Rezk; Smitherman (1990).

2.3 CONTROLE DE ODONATA

Os organofosforados e piretróides são os inseticidas mais usados em aquicultura para o controle de insetos e parasitas (FONSECA et al., 2004; JENSEN et al., 2017a; YIN et al., 2019). Atualmente, esses compostos vem sendo utilizados em cultivos aquícolas no controle de Odonata que predam juvenis de peixes (T. PÉREZ, A. CÉSPEDES, M. RIVERO, N. MEDRANO, 2016).

Esses compostos possuem alta toxicidade para peixes e fauna de invertebrados aquáticos (BUMROONGSOOK, 2018), contaminando a água e o solo, bem como vegetais, frutas, leite, produtos alimentícios e outros organismos vivos (CHANDRA et al., 2017). Além disso não possuem seletividade do vetor alvo e causam toxicidade severa e até morte em humanos e animais domésticos (MINTON; MURRAY, 1988).

Em seres humanos, o uso com frequência, e/ou feito de maneira inadequada, pode causar a redução na atividade das colinesterases no sangue de produtores que fazem uso irregular desse tipo de substância (MUNGKALASIRI; PAENGJUNTUEK, 2016). Em altas concentrações no sangue, os organofosforados, diminui a frequência cardíaca, afetando assim ao bloqueio aurículo-ventrícula resultando na diminuição do volume de sangue sendo bombeado pelo coração, gerando hipotensão (CARRINGTON DA COSTA et al., 1988). Além disso o uso inadequado pode levar a alergias, dermatites e problemas na pele (BUMROONGSOOK, 2018). as intoxicações provocadas por estes compostos têm aumentado particularmente nos países em desenvolvimento, onde a intoxicação voluntária por estes compostos chega a ser causa de morte de 200 000 pessoas por ano (TEIXEIRA et al., 2004).

Em organismos aquáticos esses compostos afetam o crescimento dos peixes, podendo causar torção do corpo, devido a uma hipercontração muscular, também podem afetar a absorção de vitamina C e, conseqüentemente, o desenvolvimento do esqueleto (GUIMARÃES et al., 2019). Um estudo realizado por (KAVITHA; VENKATESWARA RAO, 2007) observaram que doses de organofosforados acima do recomendado resulta em inibição da atividade da acetilcolina e a ocorrência de peroxidação lipídica elevada, levando a toxicidade desse pesticida.

2.4 INSETICIDAS NATURAIS

Os inseticidas naturais são uma saída sustentável para o combate a insetos aquáticos (RAMANIBAI; VELAYUTHAM, 2015), pois em resposta aos agentes patogênicos, as plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenoides, que coevoluem com os insetos e microorganismos, tornando essas plantas fontes naturais de substâncias inseticidas (MARANGONI; MOURA;

GARCIA, 2013), sendo considerados compostos biodegradáveis (ASOGWA et al., 2010; KAMARAJ et al., 2010). Com isso, estudos tem sido realizados com o objetivo de conhecer os efeitos inseticidas desses compostos (ERVINA; SUKARDIMAN, 2018; NIROUMAND et al., 2016; VISHNUKANTA, 2008).

Diferentes plantas foram testadas e obtiveram efeitos significativos (CARLINI; GROSSI-DE-SÁ, 2002). Entre estas podemos citar: *Allium sativum* (alho), *Artemisia absinthium* (absinto), *Citrullus colocynthis* (melancia), *Laurus nobilis* (Louro), *Mentha pulegium* (menta), *Myrtus communis* (murta), *Nerium oleander* (oleandro), *Ocimum basilicum* (manjeriço) e *Origanum majorana* (manjerona) (NIROUMAND et al., 2016), sendo *Melia azedarach* e *Azadirachta indica* as mais usadas, pois possuem uma quantidade grande de triterpenóides, especificamente substâncias limonóides (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005; MOURÃO et al., 2004). Essas substâncias naturais atuam no sistema neuroendócrino, interferindo nos processos de troca de tegumento e na metamorfose, agindo nos hormônios reguladores de crescimento (DOSHI; SHENDAGE; KHYADE, 2016) ou interferindo no metabolismo respiratório das células e na síntese de ATP (MAHMOUD et al., 2019; NURHAYATI; SUBCHAN; PRIHATIN, 2018).

2.4.1 Nim (*Azadirachta indica* A.Juss.)

O nim é uma planta pertencente à família Meliaceae (VAN DER NAT et al., 1991), uma família cujos membros são fontes de limonoides, um grupo de fitoquímicos de sabor amargo com propriedades inseticidas (TILNEY; NEL; VAN WYK, 2018). Essa planta é originária da Índia e Birmânia (KUMAR; NAVARATNAM, 2013), sendo muito comum em áreas áridas do sul e sudeste da Ásia. Foi introduzida pela primeira vez na África, América Latina e Oceania cerca de cem anos atrás, onde encontra-se amplamente distribuída (KUMAR; NAVARATNAM, 2013; ZHANG YAN PING et al., 2002).

No Brasil essa planta foi introduzida para uso ornamental, sendo uma das espécies mais abundantes na arborização do tipo forquilha (RUFINO; SILVINO; MORO, 2019). É uma planta bem adaptada ao clima brasileiro, tendo ampla

distribuição e podendo ser encontrada desde o semiárido nordestino ao sul do Brasil (LIRA DE MEDEIROS et al., 2017).

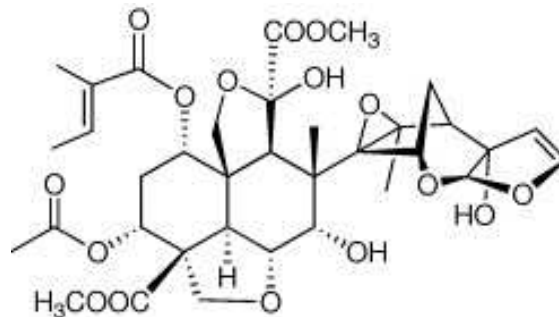
São árvores atrativas, podem crescer até 30 m de altura, com galhos espalhados que cobrem cerca de 10 m de diâmetro (MORDUE; NISBET, 2000). Apresenta grande quantidade de folhas do tipo imparipenadas, que se mantêm sempre verdes (AMEDE et al., 2017), e com distribuição alternadas nos galhos, além disso possuem folíolos de coloração verde-claro intenso, que caem somente em casos de seca e frio extremo (MOHAMED et al., 2018). Possui raízes laterais auxiliares e uma raiz principal do tipo pivotante, que penetra profundamente no solo, sendo sua principal estrutura de sustentação, o que possibilita a retirada de água e nutrientes de grandes profundidades (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

O nim possui diversos usos, dentre eles: composição de paisagens (paisagismo), devido à sua grande quantidade de folhas (WANG et al., 2016); produção de madeira; carvão pirolisado; biocombustível (SOWMYA DHANALAKSHMI; MADHU, 2019), e uso fitomedicinal no tratamento de diversas doenças, devido à grande quantidade de compostos antioxidantes (ALZOHAIRY, 2016). Entretanto o seu principal uso é como inseticida natural por possuir compostos bioativos, a qual é extraída dos frutos e folhas para a obtenção de extratos e óleos (ESPARZA-DÍAZ et al., 2010; MORDUE; NISBET, 2000; WINKALER et al., 2007). Plantações de árvores nim foram estabelecidas no Brasil, especificamente, com o fim de fornecer o óleo de frutas para a produção de inseticidas naturais e produtos cosméticos (FORIM et al., 2010).

As diversas partes do nim possuem uma grande quantidade de compostos, dentre esses à classe dos produtos naturais conhecidos por triterpenos, mais especificamente limonoides (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005), os quais perfazem cerca de 1% da planta (VAN DER NAT et al., 1991). Entre os limonoides, os compostos mais ativos são a azadiractina A e B, salanin (LEE et al., 2013), meliantrol, nimbin e nimidin (CASTILLO-SÁNCHEZ; JUAN JOSÉ JIMÉNEZ-OSORNIO; MARÍA DELGADO-HERRERA, 2010). No entanto considera-se que 72 a 90% da atividade biológica é devido a presença das azadiractinas (SCHMUTTERER, 1990).

A azadiractina ($C_{35}H_{44}O_{16}$) (Figura 1) é um limonoide polar, encontrado nas sementes, frutos, flores, folhas, galhos, cascas e raízes do nim, possuindo um alto interesse biológico no controle de insetos e outros artrópodes e espécies em filós relacionados (FORIM et al., 2010). Atua como uma substância anti ecdisteroide, interferindo com alguns transmissores envolvidos na regulação da biossíntese e / ou liberação de ecdisona, responsáveis pelas mudas e crescimento de insetos (SCHMUTTERER, 1990), sendo não-tóxico para os vertebrados (FORIM et al., 2010; MORGAN, 2009).

FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA DE AZADIRACTINA ($C_{35}H_{44}O_{16}$), COMPOSTO PRESENTE NO NIM (*Azadirachta indica* A. JUSS.).



(Fonte: MORGAN, 2009)

O efeito inseticida dessa planta é apresentado em vários estudos, com diversas espécies e com diferentes tipos de preparos: em *Anopheles* usando o óleo das sementes e folhas (ALIERO, 2003); em *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) com óleo de sementes (MAHMOUD et al., 2019); em *Syllepte derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) com óleo das sementes (GANDA et al., 2019); em *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) usando óleo de sementes (ZANUNCIO et al., 2016), em *Periplaneta americana* (Blattaria: Blattidae) com extrato etanólico (ROSEMARY; NESTOR; ABALIS, 2018); em ácaro *Iphiseiodes zuluagai* (Acari: Phytoseiidae) com extrato alcoólico (MOURÃO et al., 2004); e em *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) com extrato aquoso (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2007).

2.4.2 Cinamomo (*Melia azedarach* L.)

O cinamomo é uma planta pertencente à família Meliaceae (ERVINA; SUKARDIMAN, 2018). Essa família inclui 50 gêneros e 1.400 espécies (KURAVADI;

GOWDA, 2019), sendo que dentro do gênero *Melia*, a espécie *M. azedarach* é a mais conhecida por estar presente em várias partes do mundo (SHARMA; PAUL, 2013).

M. azedarach uma espécie endêmica do sul da Ásia (Irã, Índia e sul da China) (PENNINGTON, 1981). Possui ampla distribuição, desde a China, Índia e Japão até a Indonésia, Austrália África, América do Norte, América do Sul e sul da Europa (NTALLI et al., 2010). No Brasil é considerada uma espécie exótica invasora (HOPPEN et al., 2014; RUFINO; SILVINO; MORO, 2019).

São árvores caducifolia, com altura variando de 5 a 15 m de altura, com um diâmetro que pode chegar a 110 cm de caule (AL-RUBAE, 2009) pardo-acinzentado ou marrom avermelhado, com fissuras longitudinais e oblíquas. Apresenta copa aberta, com longas folhas alternas, bipinadas (KUMAR et al., 2003), com 3-6 pares de pinas secundárias opostas, cada uma com 4-5 pares de folíolos opostos, os quais são verde-escuros, ovalados ou elípticos, com margem parcial ou inteiramente denteada e ápice agudo (SIEGLOCH et al., 2015). As flores são roxas e muito perfumadas, e seus frutos são amarelos, arredondados, lisos e duros e contém de 4 a 5 sementes negras (AL-RUBAE, 2009).

Possui diversos usos, dentre eles, arborização pública e composição de paisagens (HOPPEN et al., 2014), pois essa planta possui uma ampla copa (AL-RUBAE, 2009). Apresenta propriedades farmacológicas devido à grande quantidade de compostos bioativos (NAZAR et al., 2014), com atividades antiviral, antimicrobiana, antiparasitária, contraceptiva, antifoliculogênica, citotóxica (ARAÚJO et al., 2009), inseticida, de antioviposição, larvicida e antifúngica (SHARMA; PAUL, 2013). Essas propriedades exibidas pelo cinamomo se dão devido a ampla gama de substâncias presentes nos frutos e folhas, dentre elas os terpenóides, flavonóides, esteroides, ácidos, antraquinonas, triterpenóides, meliantriol, melianona, melianol, e esteroides (NAZAR et al., 2014).

Semelhante ao nim, o cinamomo apresenta compostos limonoides e esteroides, os quais apresentam atividade inseticida, e repelentes, sendo encontrados nas sementes, folhas, casca e raízes (KUMAR et al., 2003). Estes compostos podem ser extraídos usando diversos solventes como etanol, metanol, acetona, benzeno e hexano (VISHNUKANTA, 2008). Esses compostos são capazes de inibir o

desenvolvimento de insetos e também exibem atividade ovicida e larvicida, tendo modo de ação semelhantes ao composto limonóide azadiractina (AL-RUBAE, 2009).

De forma mais específica, o cinamomo possui um conjunto de compostos chamados de meliatoxinas (DADÉ et al., 2018), as quais são tóxicas tanto para invertebrados quanto para vertebrados, e se encontram em maior quantidade nos frutos e em pequenas quantidades nas folhas (ERVINA; SUKARDIMAN, 2018). Essas substâncias compreendem uma série de limonoides, sendo as meliatoxinas A1, A2, B1 e B2 responsáveis pela sua toxicidade (FORIM et al., 2010). Essa gama de compostos presentes no cinamomo impedem a resistência dos insetos ao extrato dessa planta, pois não contém um único composto ativo, mas um coquetel de vários ingredientes altamente eficazes (BREUER et al., 2003).

O uso dos diferentes extratos e óleos dessa planta foram realizados nas mais diferentes espécies de insetos: *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomilidae) com extrato aquoso (RAJA et al., 2015), *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) com extrato etanólico (ARENA et al., 2015), *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) com uso de extrato etanólico (ROSSI et al., 2007), *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) (KHAN et al., 2016), *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) extrato etanólico (WANDSCHEER et al., 2004) e em *Neuraeschna* (Odonata: Aeshnidae) com o uso de extrato etanólico (TOMAZELLI JÚNIOR et al., 2011)

2.4.3 Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.)

Momordica charantia L. é uma planta trepadeira pertencente à família Cucurbitaceae, (PRARTHNA DANIEL; M.G.ROYMON, 2014), sendo endêmica da África tropical e sudeste Asiático (SCHAEFER; RENNER, 2010). Essa planta também é encontrada na América Latina (BASCH; GABARDI; ULBRICHT, 2003), ocorrendo em todas as regiões do Brasil, sendo uma planta bastante frequente em pomares, cafezais, sobre cercas e alambrados e em terrenos baldios (ASSIS et al., 2015).

A árvore do melão de São Caetano pode ultrapassar os seis metros de comprimento, possuindo folhas simples e alternadas com 4-12 cm de diâmetro e com 3-7 lóbulos profundamente separados com pequenos pontos marginais. Suas flores são do tipo actinomórficas, e são sempre unissexuais (SHARMA et al., 2011). A fruta

tem um formato ovalado, elipsoide ou fuso, geralmente distinto, com aparência de verruga e uma forma oblonga (KUMAR et al., 2010), sendo oca em seção transversal, com uma camada fina preenchida com sementes grandes e achatadas de coloração vermelho bordô (LAGUNOVSKI-LUCHIAN et al., 2017).

O fruto e folhas do melão de São Caetano contêm uma gama completa de compostos químicos importantes, dentre eles: proteínas e polipeptídeos; carotenóides; ácido clorogênico e resorcinol; fitosterolídeo: beta-sitosterol e estigmasterol; glicosteróides: charantina e momordina; momordicina; vitaminas do complexo B, incluindo vitamina B3; minerais (cálcio, magnésio e potássio) e oligoelementos (ferro, zinco, silício, níquel) (LAGUNOVSKI-LUCHIAN et al., 2017). Devido a sua diversidade de composição química, possui diversos usos, sendo o principal: etnobotânico (JOSEPH; ANTONY, 2008), pois possui compostos com propriedades antiviral, antibactericida, anti-helmíntico, anticancerígeno e tumoral, e antidiabético (PAUL; RAYCHAUDHURI, 2010).

Além disso, frutos e folhas, caules dessa planta possuem triterpenoides específicos, sendo tóxico aos insetos como as momordicinas e cucurbitacinas, dentre eles a momordicina I, II e III (CHANDRAVADANA, 1987; YASUDA et al., 1984; YASUI; KATO; YAZAWA1, 1998). Momordicina I e II são metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos glicosídeos triterpenos, do tipo cucurbitano, e apresentam apenas pequenas diferenças estruturais entre si. Esses compostos exibiram efeitos inseticidas significativos, incluindo alteração no apetite de ninfas de insetos, regulação do crescimento, defeitos oviposicionais (LIU et al., 2015).

O extrato dessa planta foi testado em algumas espécies de insetos tendo resultados satisfatórios como inseticida, em larvas de *Culex pipiens* usando extrato etanólico (ANNISA et al., 2010), em larvas de *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) com uso de extrato aquoso (NUR ATIQA; CHONG, T.V ROZEITA, 2015), em larvas de *Spodoptera litura*, e *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) com extrato metanólico (YASUI; KATO; YAZAWA1, 1998), e larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera, Plutellidae) com uso de extrato etanólico (BING et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a toxicidade dos produtos naturais em Odonata e alevinos de tilápias do Nilo, foram realizados testes de toxicidade aguda e crônica, respectivamente.

Utilizou-se três extratos naturais preparados a partir das folhas de plantas com potencial bioinseticidas: *Azadirachta indica* (nim) (SCHMUTTERER, 1990), *Melia azedarach* (cinamomo) (TORRES *et al.*, 2006) e *Momordica charantia* (melão de São Caetano).

3.1 CONFECÇÃO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS

A partir das folhas de *Azadirachta indica* (Figura 2A), *Melia azedarach* (Figura 2B) e *Momordica charantia* (Figura 2C), coletadas no município de Palotina estado do Paraná (24° 16' 54" S, Longitude: 53° 50' 25"W), em julho de 2018, foram confeccionados extratos hidroalcoólicos para testar a toxicidade em Odonata do gênero *Pantala*, e alevino de peixe da espécie *Oreochromis niloticus*. A identificação das plantas foi feita pela Dr^a. Carina Kozera, botânica do Departamento de Biodiversidade da UFPR – Setor Palotina.

FIGURA 2 - *Azadirachta indica* (A), *Melia azedarach* (B) E *Momordica charantia* (C) COLETADAS EM PALOTINA, ESTADO DO PARANÁ.



FONTE: O autor (2010).

Foram coletados nove kg de folhas de cada planta, as quais foram triadas, retirando-se os galhos, folhas secas e folhas com algum tipo de imperfeição (Figura

3A). Logo após a triagem, as mesmas foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura de 40°C durante um período de 48 horas, até que atingissem menos de 10% de umidade (Figura 3B). Esse material foi mantido em sacos escuros fechados a vácuo, em local escuro, até o momento da confecção dos extratos.

FIGURA 3 - FOLHAS DAS PLANTAS APÓS A TRIAGEM (A), E FOLHAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE VENTILAÇÃO FORÇADA, À TEMPERATURA DE 40°C, DURANTE UM PERÍODO DE 48 HORAS, ATÉ QUE ATINGISSEM MENOS DE 10% DE UMIDADE (B).



FONTE: O autor (2010).

Para a confecção dos extratos, inicialmente as folhas pré-secas foram trituradas em moinho de facas (2 mm), e na sequência foram peneiradas em conjunto de peneiras para garantir que o material tivesse menos de dois mm de granulometria (Figura 4 B).

FIGURA 4 - (A) FOLHAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE VENTILAÇÃO FORÇADA ANTES DE PASSAR PELO PROCESSO DE TRITURAÇÃO; (B) FOLHAS TRITURADAS E PENEIRADAS (2 MM).

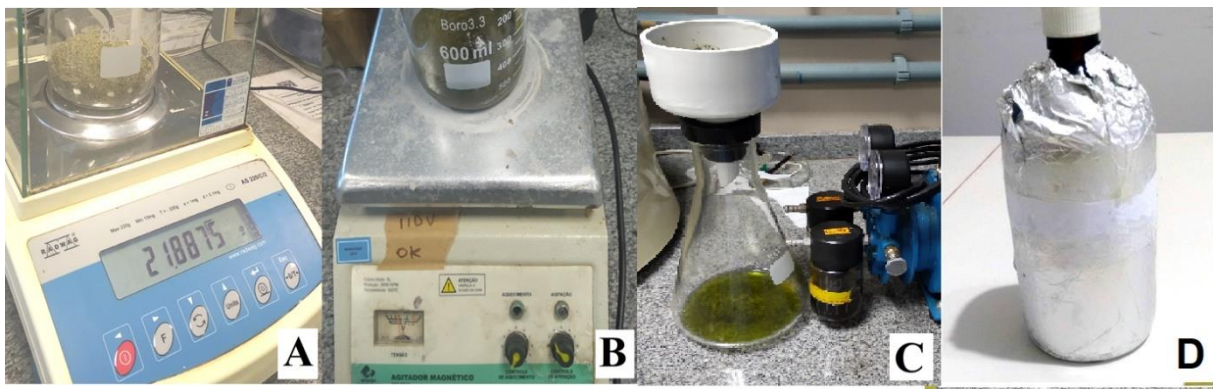


FONTE: O autor (2010).

Para a preparação dos extratos hidroalcoólicos foram pesados 21,8g (Figura 5A) do material triturado, ao qual foi adicionado 125 mL de solução hidroalcoólica (70 partes de álcool etílico absoluto 99,5 % PA para 30 partes de água destilada). Essa mistura foi homogeneizada usando agitador magnético durante um período de 24 horas (Figura 5B). Posteriormente, foi realizada filtração, utilizando-se uma bomba de vácuo, um conjunto de filtração composto de um funil Buchner, um kitassato e filtros de papel qualitativo (gramatura: 85g; espessura: 0,20mm; retenção de partículas: 1-2 μ m) (Figura 5C). O filtrado foi armazenado em frasco âmbar sob refrigeração.

Na sequência, retirou-se o material retido no filtro, o qual mais uma vez foi misturado em 125mL da solução hidroalcoólica e agitado durante 24 horas para posterior filtragem. Ao final uniu-se os dois filtrados totalizando 250 mL solução. A preparação dos extratos seguiu metodologia adaptada de (PRISTA et al., 2014), e esses extratos foram mantidos armazenados em frasco âmbar sob refrigeração até o momento da realização dos testes de toxicidade (Figura 5D).

FIGURA 5 - PESAGEM (A), AGITAÇÃO(B) FILTRAGEM (C) E ARMAZENAGEM DOS EXTRATOS ALCOOLICOS DE *Azadirachta indica* (A), *Melia azedarach* e *Momordica charantia* COLETADAS EM PALOTINA ESTADO DO PARANÁ.



FONTE: O autor (2010).

3.2 PRÉ-ENSAIOS E ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA EM ODONATA

Para verificar a toxicidade aguda dos extratos em Odonata, realizou-se dois pré-ensaios com cada extrato, e um ensaio definitivo. Esses pré-ensaios foram necessários para obtenção de faixas de respostas de mortalidade, que correspondem

a intervalos de concentração que ocasionaram mortalidade dos insetos desde próximo de zero até próximo de 100%.

Para o primeiro pré-ensaio de toxicidade aguda foram coletadas 45 larvas de Odonata do gênero *Pantala*, com comprimento entre um e dois cm, os quais foram encontrados em tanques de piscicultura em Palotina. Antes de iniciar o teste, esses indivíduos passaram por um período de observação e aclimação de dois dias, colocados separados em recipientes de Plásticos de 250 mL contendo 150 mL de água, na densidade de um Odonata para cada recipiente, alimentadas com larvas de Chironomidae, uma vez por dia.

O pré-ensaio 1 foi realizado com seis tratamentos, sendo cinco diluições e um controle de cada extrato: 0, 10, 50, 100, 200 e 500 $\mu\text{L/L}$ correspondendo as concentrações de (0,044; 0,0174; 0,009; 0,0043; 0,00087 e 0 g/L) e três repetições, em delineamento inteiramente casualizado. Para diluir os extratos foi utilizado água do ambiente onde os Odonata foram coletados. Cada unidade experimental (UE) foi composta de recipientes cilíndricos de vidro de 250 mL, com 150 mL de solução e um Odonata. Esses animais permaneceram em contato com os extratos diluídos por um período de 48 horas, sendo monitorados a cada duas horas.

A cada verificação foram observados e quantificados os indivíduos mortos, ou seja, que não apresentavam qualquer movimento ao toque ou movimentação na sua parte abdominal. Esse ensaio foi realizado no laboratório de Qualidade de Água e Limnologia (LaQaL) da UFPR- Setor Palotina.

Para o segundo pré-ensaio de toxicidade aguda foram coletadas 80 Odonata do gênero *Pantala*, com comprimento entre um e dois cm, esses animais foram coletados no *Campus* da UFPR de Jandaia do Sul devido a abundancias desses indivíduos.

Para esse segundo pré-ensaio, os insetos foram expostos a cinco diluições de cada um dos três extratos sendo elas (3, 5, 10, 20 e 30 ml/L) correspondendo as concentrações de (0,26, 0,43, 0,87, 1,74, 2,62 g/L) e um controle, em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições, totalizando 30 UE para cada extrato. Seguiu-se a metodologia do primeiro pré-ensaio.

Após os dois pré ensaios determinou-se a faixa mínima, e máxima que ocorre mortalidade das Odonata, sendo esses ensaios necessários para refinar concentrações e, assim, determinar as concentrações letais para Odonata.

Para o ensaio definitivo de toxicidade, 990 Odonata do gênero *Pantala* foram coletadas nos tanques de aquicultura da UFPR - *Campus* avançado de Jandaia do Sul, no período de abril a maio de 2019. Antes de iniciar o ensaio, esses animais passaram por um período de observação e aclimação de 2 dias, separadas, em recipientes de vidro de 250 mL contendo 150 mL de água de onde esses animais foram coletados, sendo 1 indivíduo para cada recipiente, alimentadas com larvas de Chironomidae, uma vez por dia.

Realizou-se diluições para cada um dos três extratos. Para o extrato de nim as concentrações utilizadas foram entre 0 até 1,52 g/L, totalizando 13 tratamentos. Para o melão de São Caetano as concentrações utilizadas foram entre 0 a 0,87 g/L totalizando oito tratamentos. Para o cinamomo foram usadas as concentrações foram 0 a 1,66 g/L, com 13 tratamentos (Tabela, 1).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES DE CADA UM DOS TRÊS EXTRATOS UTILIZADOS NO ENSAIO DEFINITIVO COM ODONATAS.

Extratos	Concentrações (g/L)
Nim	0; 1,05; 1,09; 1,13; 1,18; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48;
Melão de São Caetano	0; 0,61; 0,65; 0,70; 0,74; 0,78; 0,83; 0,87
Cinamomo	0,0; 1,22; 1,26; 1,31; 1,35; 1,40; 1,44; 1,48; 1,53; 1,57; 1,61; 1,66

Todos tratamentos foram compostos por 10 repetições e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Cada unidade amostral consistia em um recipiente de vidro de 250 mL, com uma Odonata e 150 mL da solução (Figura 6B), totalizando 130 UE para o nim, 160 UE para o cinamomo e 80 UE para o melão de São Caetano. Esses recipientes foram vedados com tela de nylon para evitar a saída dos animais (Figura 6C).

FIGURA 6 - ODONATA COLETADAS NO CAMPUS AVANÇADO JANDAIA DO SUL (UFPR) NO PERÍODO DE ABRIL A MAIO DE 2019 (A), RECIPIENTES USADOS NO TESTE DE TOXICIDADE AGUDO EM ODONATA (B), TELAS USADAS PARA EVITAR QUE AS ODONATA ESCAPEM DOS RECIPIENTES (C).



FONTE: O autor (2010).

Os indivíduos foram monitorados a cada seis horas durante um período de 48 h, seguindo a metodologia do pré-ensaio 1. Esse bioensaio foi repetido três vezes. Após o experimento, calculou-se as concentrações letais e sub letais que provocaram mortalidade em 50% e 99% dos indivíduos em 24 e 48 horas usando o cálculo de probitos. Em seguida escolheu-se o extrato com a menor concentração capaz de provocar mortalidade em 50% e 99% das Odonata em 24 e 48 horas.

Também foi realizado um teste toxicidade agudo usando diluições de álcool etílico em Odonata, com o objetivo de verificar se as concentrações de álcool usadas na confecção dos extratos possuem alguma toxicidade em Odonata. Para isso, usou-se 10 diluições de álcool etílico 70% (70 partes de álcool etílico absoluto 99,5 % PA para 30 partes de água destilada), sendo essas diluições 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 g/L com 10 réplicas, totalizando 100 UE. Foram utilizadas 100 Odonata com comprimento variando entre 2 e 3 cm, as quais foram expostas às concentrações por um período de 48 horas. A metodologia para esse teste seguiu a mesma metodologia do teste agudo com extratos.

3.3 ENSAIO DE TOXICIDADE CRÔNICA EM ALEVINOS DE TILÁPIA

Para o ensaio, foram adquiridos 200 alevinos em piscicultura da região de Palotina-PR, os quais foram transportados para a UFPR em sacos de transportes para peixes, com saturação de oxigênio. Ao chegar no laboratório experimental, os peixes foram aclimatados durante uma semana em caixas de 1000 litros, com dois termostatos com aquecedor de 300 W para controle de temperatura, permanecendo a uma temperatura de 28°C, e aeração constante feita por meio de três compressores

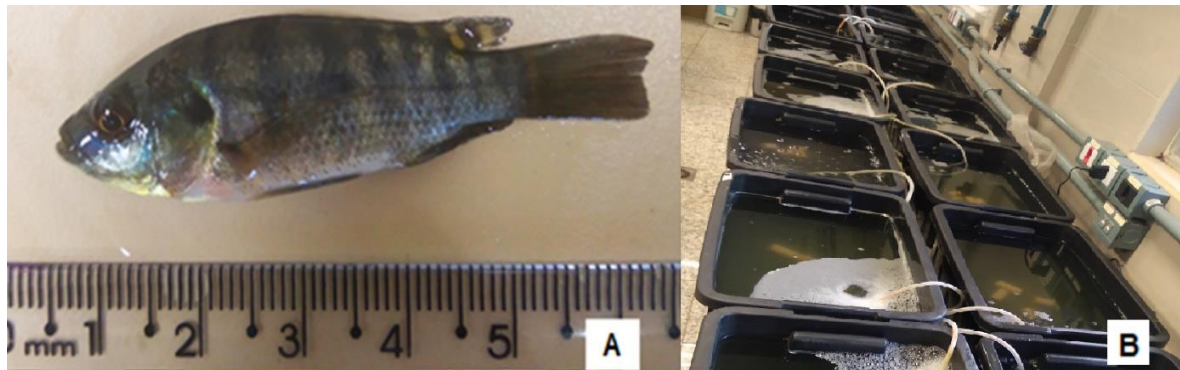
de ar, com 3W de potência. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia à taxa de 6% do peso vivo, com ração comercial extrusada de 2 mm e 45% de proteína bruta e 3500 kcal, permanecendo assim até a realização do experimento.

As concentrações de extrato hidroalcoólico das folhas de melhor resultado no teste de Toxicidade para as Odonata, foram testadas para alevinos de tilápia durante um período de 30 dias. Para isso, 80 animais foram selecionados e pesados (Figura 7A), tendo seus pesos padronizados entre 2 a 3 g.

Foram utilizados 20 tanques com 10 litros de água onde foram feitas diluições correspondentes a cada CL (Figura 7B), sendo que em cada tanque foram alocados quatro alevinos, com quatro réplicas de cada tratamento, em um delineamento inteiramente casualizado.

A remoção de fezes era feita duas vezes ao dia por meio de pipetagem (cerca de 150 mL/dia), sendo que a mesma quantidade de água retirada das caixas era repostada, com a mesma diluição de extrato.

FIGURA 7 - ALEVINOS DE TILÁPIA USADOS NO EXPERIMENTO (A), RECIPIENTES USADOS NO TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICO (B).



FONTE: O autor (2010).

Durante o período experimental, os peixes foram alimentados três vezes ao dia à taxa de arraçoamento de 6% do peso vivo, com ração comercial extrusada para peixes onívoros com granulometria de 2 mm, 45% proteína bruta e 3500 kcal/kg. Semanalmente realizou-se biometria dos peixes, para ajuste da ração, bem como análise de parâmetros da qualidade da água: alcalinidade total, dureza total, amônia total e nitrito, usando metodologias do (APHA, 2005); e diariamente a temperatura e o pH foram analisados usando termômetro digital e pHmetro digital modelo LUCA-210, respectivamente.

Ao final do período experimental esses alevinos foram pesados com uso de balança digital, e levados em recipientes plásticos para o Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Paraná (UFPR), onde realizou-se a dissecação de tecidos para análises histopatológicas.

A coleta e manuseio das Odonata seguiu autorização para atividades com finalidade científica emitida pelo Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO sob o número: 66680-1. O manejo e eutanásia dos animais foi autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob a licença de protocolo nº 26/2018 e seguiu os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.4 HISTOLOGIA

Para avaliar os efeitos toxicológicos que o extrato mais eficiente para provocar mortalidade nos Odonata causam no tecido branquial dos alevinos de tilápias do Nilo, foram realizadas análises histopatológicas. Para isso, dois alevinos de cada caixa foram selecionados ao acaso, emergidos e eutanasiados em super dosagem de solução anestésica de Eugenol® (óleo de cravo) na concentração de 300 mg/L.

Em seguida, esses animais foram dissecados pra retirada das brânquias, as quais foram colocadas em histocassettes e, então, passaram pela rotina histológica, seguindo a metodologia de (SABALIAUSKAS et al., 2006). Posteriormente, os blocos foram cortados usando micrótomo de parafina com espessura de 5µm, e, posteriormente, transferidos para uma lâmina de vidro, e corados com soluções de hematoxilina e eosina. Na sequência, a coloração das lâminas foram montadas de forma permanente com a utilização do bálsamo do Canadá (KUMAR; KUMARI, 2016).

Para a análise das lesões nas brânquias em cada tratamento foi utilizada o índice de lesões desenvolvido por (BERNET et al., 1999), adaptado de (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995). Esse índice consiste na caracterização da lesão provocada por agentes toxicológicos, levando em consideração seu grau de alteração e a frequência dessa alteração.

Para isso, cada lesão foi classificada de acordo com o tipo padrão de reação (W_{org rp alt}), o qual varia de 1 a 3, de acordo com cada uma das 16 alteração sugeridas

pelo método, sendo de grau “1” = alterações leves, “2” = alterações moderadas, e “3” = alterações irreversíveis, as lesões avaliadas estão descritas no (Anexo, 1). As lesões foram também avaliadas de acordo com sua frequência de ocorrência ($\alpha_{org\ rp\ alt}$), recebendo um valor variando de zero a 6 dependendo do grau e extensão da alteração, sendo (0) inalterada, (2) ocorrência leve, (4) ocorrência moderada, e (6) ocorrência grave (lesão difusa). O cálculo do índice é feito usando a seguinte notação:

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (\alpha_{org\ rp\ alt} * W_{org\ rp\ alt})$$

Onde: org = órgão; rp = reação padrão; alt = alteração; α = valor da pontuação; w = fator de importância.

3.5 ESTATÍSTICA

As concentrações letais (CLs) foram calculadas pelo método de estimação não linear, por meio de cálculos de probitos (FINNEY, 1952), com intervalo de confiança (IC) de 95%. Antes disso, os dados foram submetidos a análise de adequabilidade dos dados por meio da análise de resíduos ajustados do Teste de Pearson e Deviance, indicando se os dados seguem distribuição normal, e se o modelo Probitos é o que mais se adequa ao conjunto de dados.

Os resultados de Índice do Órgão (I_{org}) e o comprimento dos peixes em relação ao tempo de experimento, bem como a avaliação do comprimento das Odonata utilizadas no experimento foram submetidos verificação da normalidade e homogeneidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov e da análise de resíduos ajustados e homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene (SOKAL E ROHLF, 1969). Depois de confirmados estes pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA para medidas repetidas. Usou-se para todas as análises o programa Statsoft Statistica®.

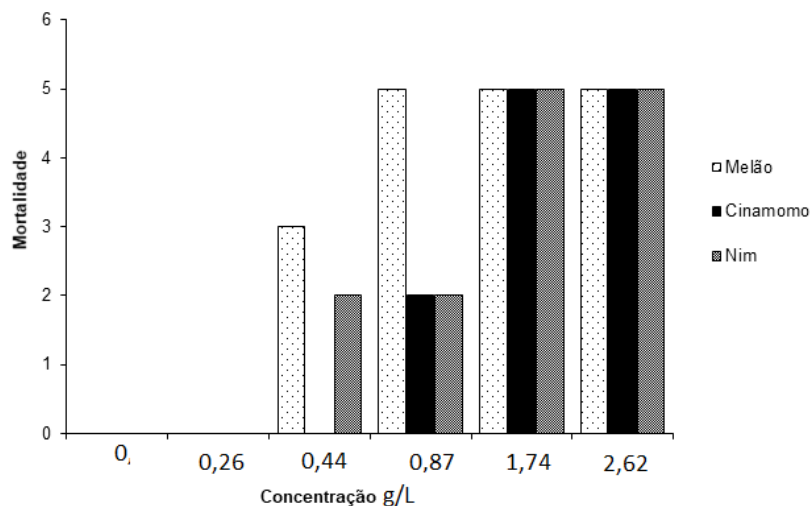
4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

5.1. Pré-ensaios e ensaio de toxicidade aguda em Odonata

Não houve mortalidade para as Odonata nas concentrações 0,0009, 0,0044, 0,0087, 0,0174, 0,0436 g/L para nenhum dos três extratos no primeiro pré-ensaio.

Para o segundo pré-ensaio, entre as cinco diluições testadas, não houve mortalidade na menor concentração 0,26 g/L para nenhum dos três extratos. Já em 0,43 g/L morreram três indivíduos no extrato de melão de São Caetano, dois no nim e nenhum no cinamomo. Na concentração de 0,87 g/L todos os cinco indivíduos morreram no extrato de Melão de São Caetano, e dois indivíduos para o nim e cinamomo. Todos os cinco indivíduos testados morreram nas concentrações de 1,7 e 2,3 g/L em todos os extratos (Figura 8), dessa forma optou-se em escolher as concentrações na faixa entre 0,4 a 1,7 g/L para o ensaio de definitivo de toxicidade.

FIGURA 8 - CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS DE NIM, CINAMOMO E MELÃO DE SÃO CAETANO, E MORTALIDADE DAS ODONATA PARA O SEGUNDO PRE ENSAIO DE TOXICIDADE.



FONTE: O autor (2010).

Na realização da análise de probitos, foi verificada relação entre diferentes concentrações de nim, cinamomo e melão de São Caetano com a mortalidade de Odonata ($p < 0,01$), indicando que a variável concentração teve um efeito significativo sobre a mortalidade em Odonata. O coeficiente angular (β_1) da equação apresentou valores positivos, indicando que quanto maior a concentração dos extratos, maior é a mortalidade (Tabela, 2).

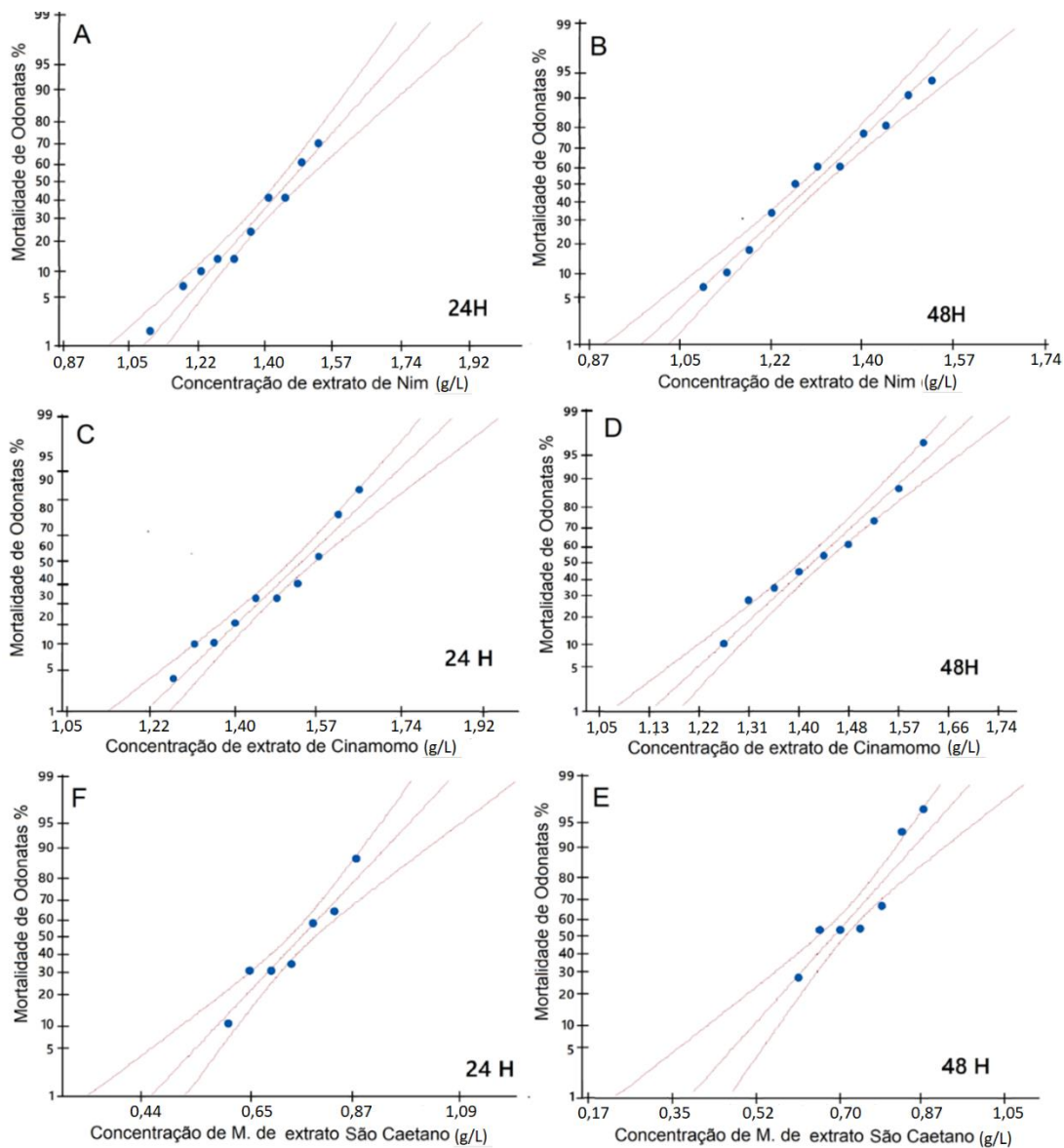
O teste de qualidade de ajustes da análise de probitos mostrou que o conjunto de dados assumem distribuição normal com $p > 0,05$.

TABELA 2 - TABELA DE REGRESSÃO DA ANÁLISE DE PROBITOS CORRELACIONADO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM, CINAMOMO E MELÃO DE SÃO CAETANO EM RELAÇÃO A MORTALIDADE DE ODONATA, ONDE ESTÁ EXPRESSO OS COEFICIENTES β_0 E β_1 DA EQUAÇÃO DE PROBITOS $G(\pi) = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_i$, O ERRO PADRÃO, Z CALCULADO E P.

	Variável	Coef.	Erro Padrão	Z	p
24h	Constante β_0	-8,927	0,972	-9,190	0,000
	Concentração β_1 (nim)	0,536	0,062	8,670	0,000
	Constante β_0	-10,828	1,110	-9,760	0,000
	Concentração β_1 (cinamomo)	0,615	0,065	9,480	0,000
	Constante β_0	-5,718	0,861	-6,640	0,000
	Concentração β_1 (melão de S. Caetano)	0,653	0,100	6,530	0,000
28h	Constante β_0	-9,256	0,829	-11,170	0,000
	Concentração β_1 (nim)	0,622	0,055	11,210	0,000
	Constante β_0	-11,499	1,082	-10,630	0,000
	Concentração β_1 (cinamomo)	0,705	0,066	10,700	0,000
	Constante β_0	-5,256	0,877	-5,990	0,000
	Concentração β_1 (melão de S. Caetano)	0,668	0,105	6,360	0,000

No gráfico de probabilidade para os dados de mortalidade pelas concentrações dos extratos de nim, cinamomo e melão de São Caetano, é possível observar que o ajuste linear da análise de probitos faz sentido para esse conjunto de dados, pois os pontos no gráfico se encontram relativamente próximos à linha central, e entre o intervalo de confiança de 95% tanto inferior quanto superior (Figura 9 A, B, C, D, E, F).

FIGURA 9 - PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B), CINAMOMO 24(C) E 48 HORAS (D) E MELÃO DE SÃO CAETANO 24(E) E 48 HORAS (F).

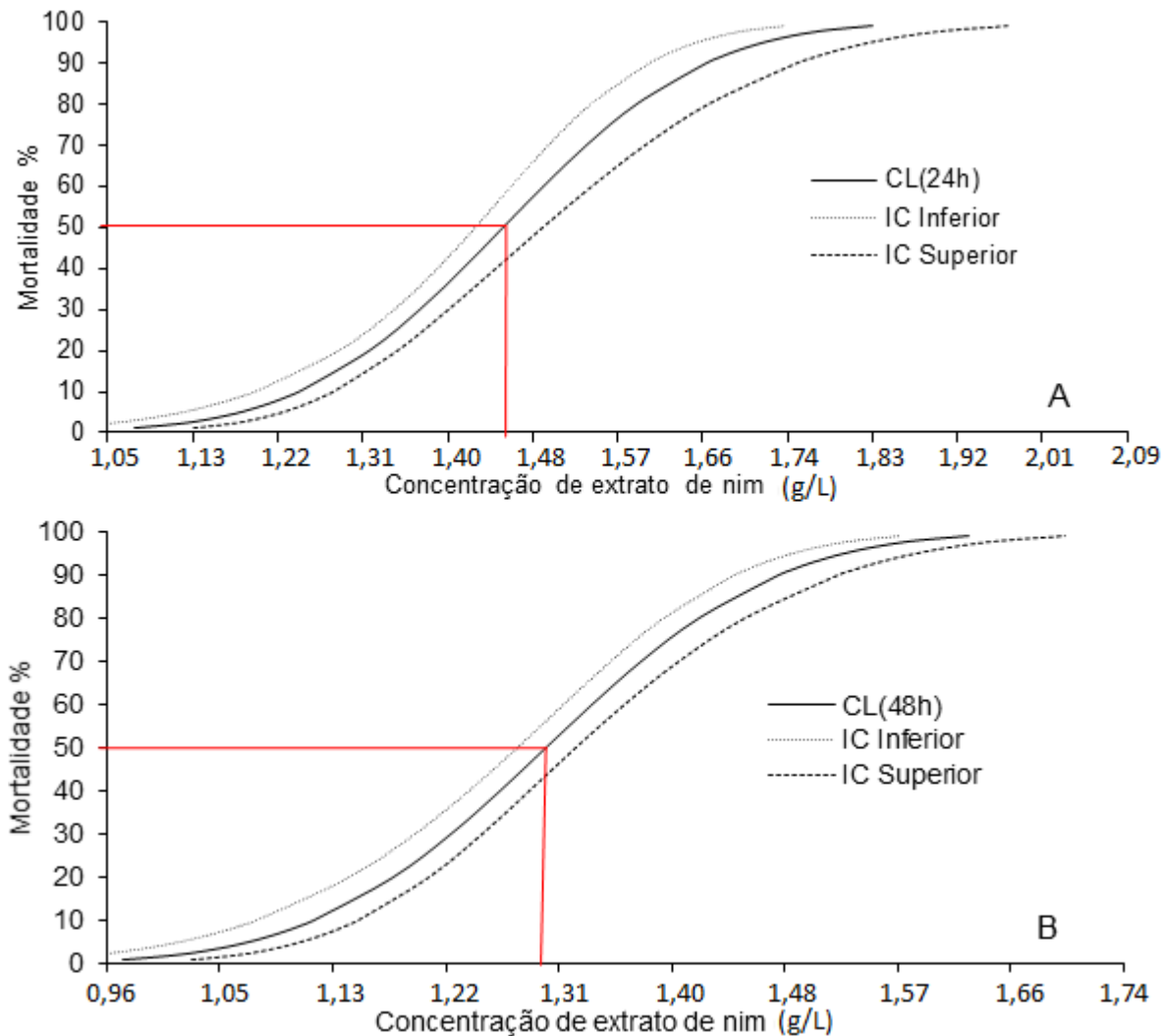


FONTE: O autor (2010).

A concentração sub letal (CL50) de extrato hidroalcoólico de nim para as Odonata expostas durante um período de 24 horas, e determinada pelo cálculo de probitos foi: $CL_{50}(24h) = 1,45 \pm 0,02$ g/L com intervalo de confiança inferior (ICI) igual a 1,42 e intervalo de confiança superior (ICS) igual a 1,49 g/L. Já para a concentração letal CL99(24h) foi verificado o valor de $1,87 \pm 0,05$ g/L com o ICI de 1,74 e o ICS de 1,94 (Figura 10A). Para um período de 48h a $CL_{50}(48h)$ foi de $1,29 \pm 0,01$ g/L, sendo

o ICI de 1,28 g/L e o ICS de 1,32 g/L. Para a CL99(48h) foi determinado o valor de $1,62 \pm 0,03$ g/L, com ICI de 1,57 g/L e o ICS de 1,26 g/L (Figura 10B).

FIGURA 10 – GRÁFICO DOSE – RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE NIM EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B).

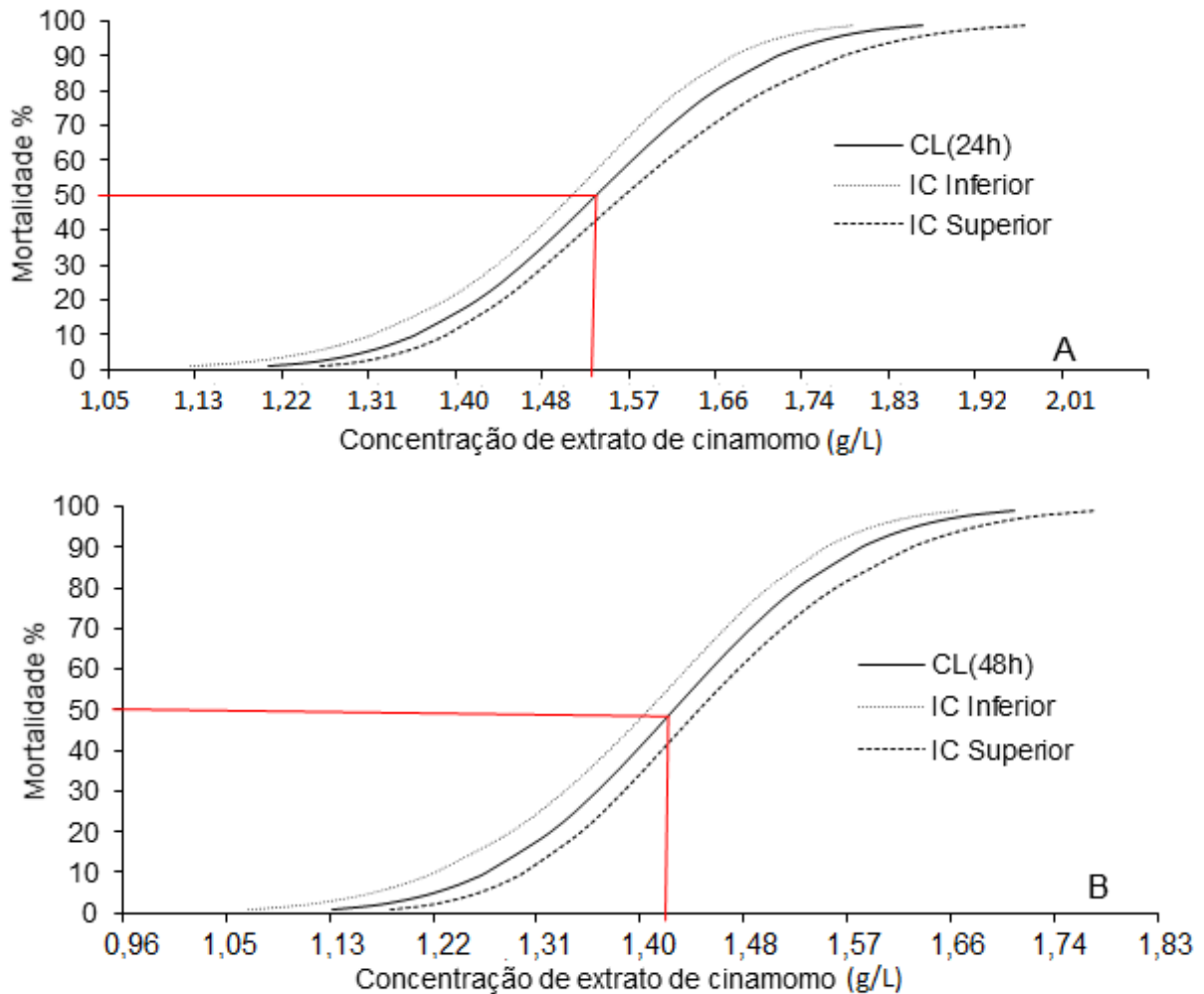


FONTE: O autor (2010).

Para o extrato hidroalcoólico de cinamomo, a determinação da CL50 pelo cálculo de probitos, para as Odonata expostas durante um período de 24 horas, foi a concentração de $1,54 \pm 0,01$ g/L (ICI = 1,54 e ICS = 1,56 g/L). Quando da verificação da CL99(24h) foi encontrado o valor de $1,87 \pm 0,04$ g/L (ICI=1,03 e ICS= 1,94 g/L) (Figura 11A). Para o período de 48h foram determinadas as concentrações letais de

CL50(48h) na concentração de $1,42 \pm 0,01$ g/L (ICI= 1,40 e ICS= 1,44 g/L) e para CL99(48h) o valor de $1,45 \pm 0,03$ g/L (ICI= 1,66 e ICS=1,78 g/L (Figura 11).

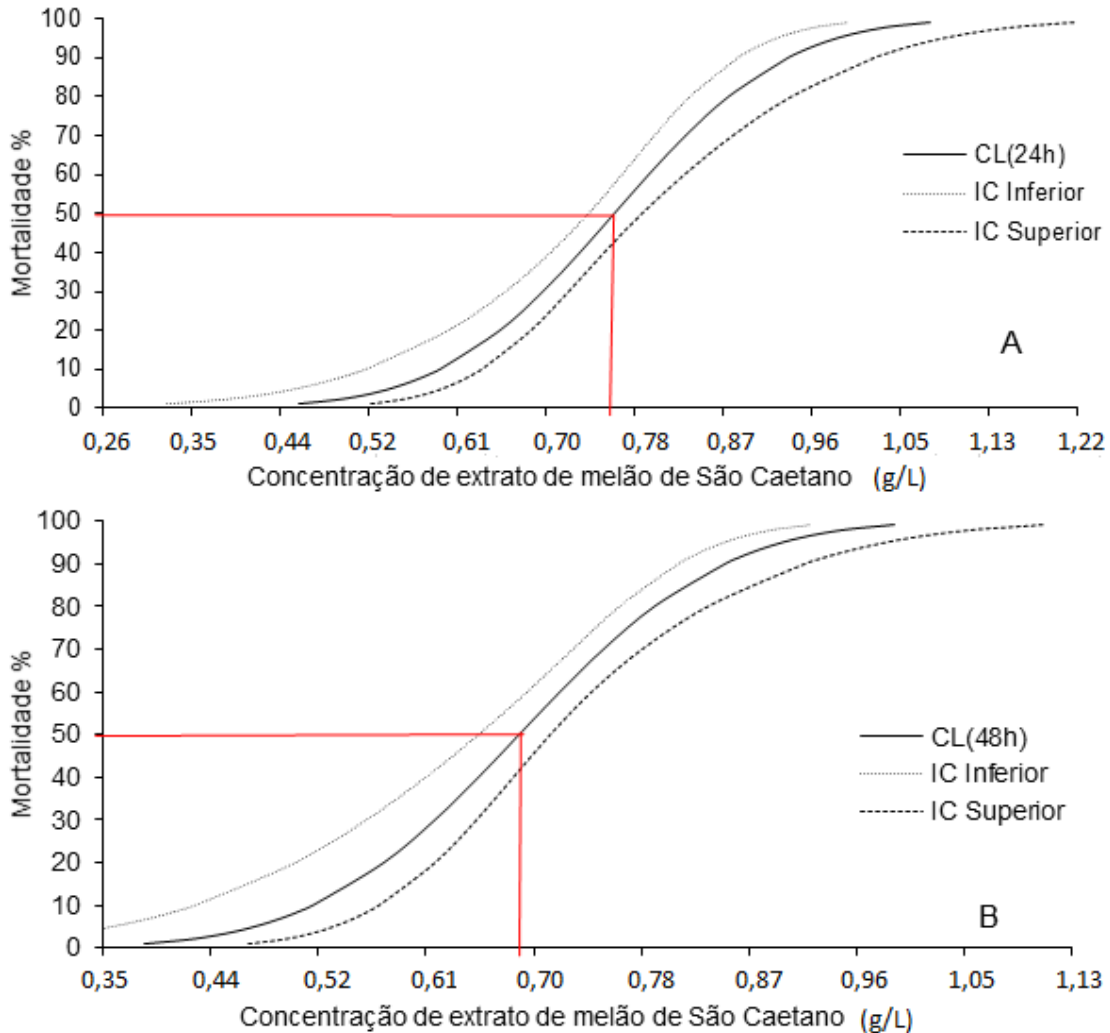
GRÁFICO 11 - DOSE –RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE CINAMOMO EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B) INDICANDO A CL50.



FONTE: O autor (2010).

Os valores determinados como as concentrações letais de melão de São Caetano capazes de provocar mortalidade em 50 e 99% das Odonata em 24 horas foram: CL50(24h) de $0,76 \pm 0,01$ g/L (ICI=0,74 e ICS=0,79 g/L): e para CL99(24h) a concentração de $1,08 \pm 0,05$ g/L (ICI=1,0 e ICS=1,22 g/L) (Figura 12A). Quando verificado no período de 48 horas foi determinado a CL50(48h) de $0,69 \pm 0,01$ g/L (ICI=0,67 e ICS=0,71 g/L); e para CL99(48h) o valor de $0,99 \pm 0,04$ g/L (ICI=0,92 e ICS=1,11 g/L) (Figura 12B).

FIGURA 12 - DOSE – RESPOSTA AJUSTADO DA ANÁLISE DE PROBITOS PARA A MORTALIDADE DE ODONATA EM RELAÇÃO AS CONCENTRAÇÕES DE MELÃO DE SÃO CAETANO EM UM PERÍODO DE 24(A) E 48 HORAS (B), INDICANDO A CL50.



FONTE: O autor (2010).

Considerando que as concentrações letais do extrato de melão de São Caetano, que ocasionaram mortalidade em Odonata, foram inferiores às obtidas para os outros dois extratos, sendo esse o extrato escolhido para a realização do teste de toxicidade crônica com peixes, sendo as concentrações escolhidas: CL50(24h) = 0,69 g/L, CL50(48h) = 0,76 g/L, CL99(24h) = 0,99 g/L, CL99(48h) = 1,08 g/L.

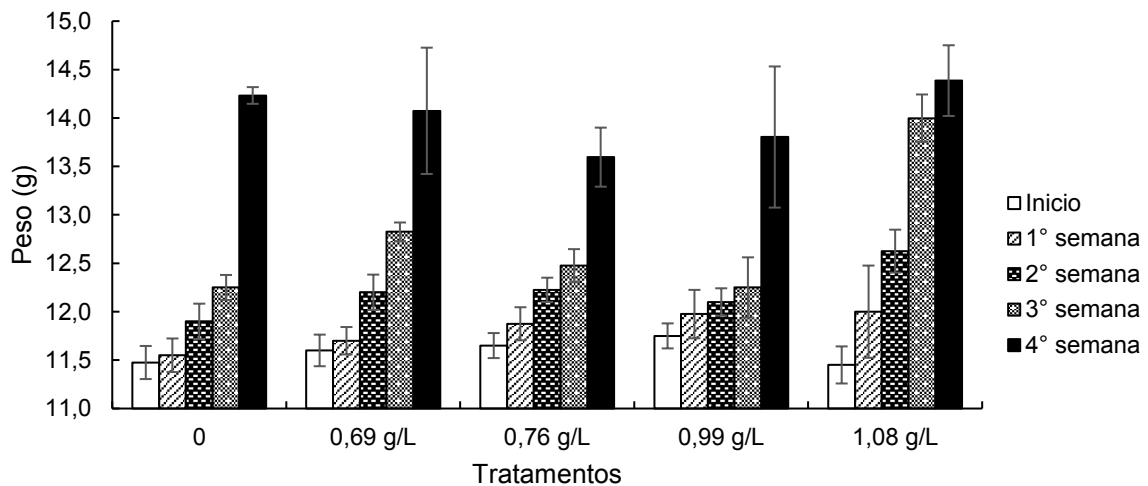
No teste agudo com concentrações de álcool houve apenas duas Odonata mortas, uma na concentração de 9 e outra da de 13 mL/L de álcool, mostrando que a quantidade de solução hidroalcoólica usada na confecção dos extratos não foi a responsável pela mortalidade das Odonata.

5.2. Ensaio de toxicidade crônica em alevinos de tilápia do Nilo

Não foi verificada mortalidade dos alevinos em nenhum tratamento durante as o período do ensaio de toxicidade crônica, os parâmetros de qualidade da água a qual os alevinos foram mantidos estão dentro dos valores recomendados para o cultivo de peixe (Anexo, 2).

Os pesos finais dos alevinos em teste de toxicidade crônica são demonstrados na (Figura 13). Houve diferença significativa entre o peso dos animais, em relação ao tempo de experimento ($F=44,4$, $p<0,05$) dentro de cada tratamento, entretanto não houve efeito significativo entre os tratamentos ($F=1,60$, $p>0,05$).

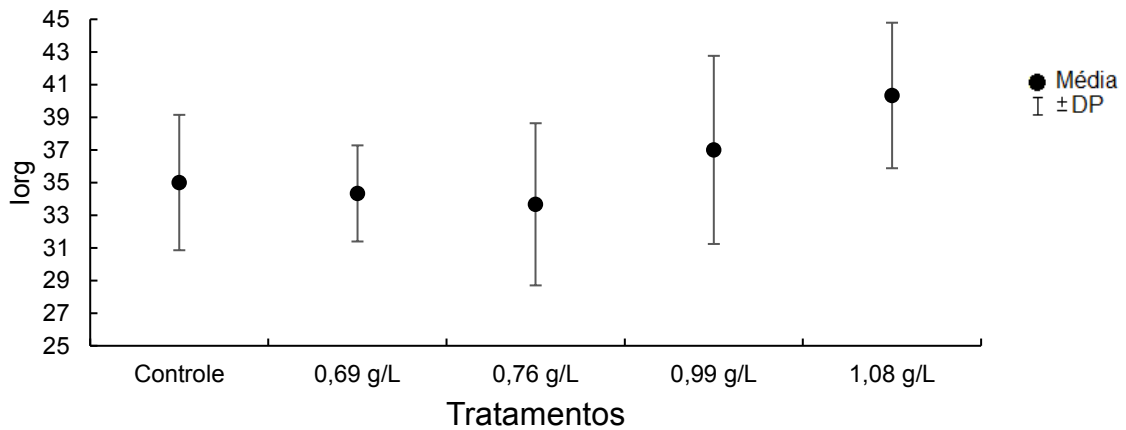
FIGURA 13 – MÉDIA DOS PESOS (g) (MÉDIA±DP) DOS ALEVINOS DE TILAPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRONICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L.



FONTE: O autor (2010).

Na determinação da média do índice de lesão de Bernet para as brânquias, foram observados danos maiores nas concentrações 0,99 e 1,08 g/L onde apresentaram 37 e 40 para o IORG respectivamente (Figura 14), no entanto, não foi verificado diferença significativa do índice em relação as concentrações de extrato de melão de São Caetano ($F=2,09$. $p>0,05$).

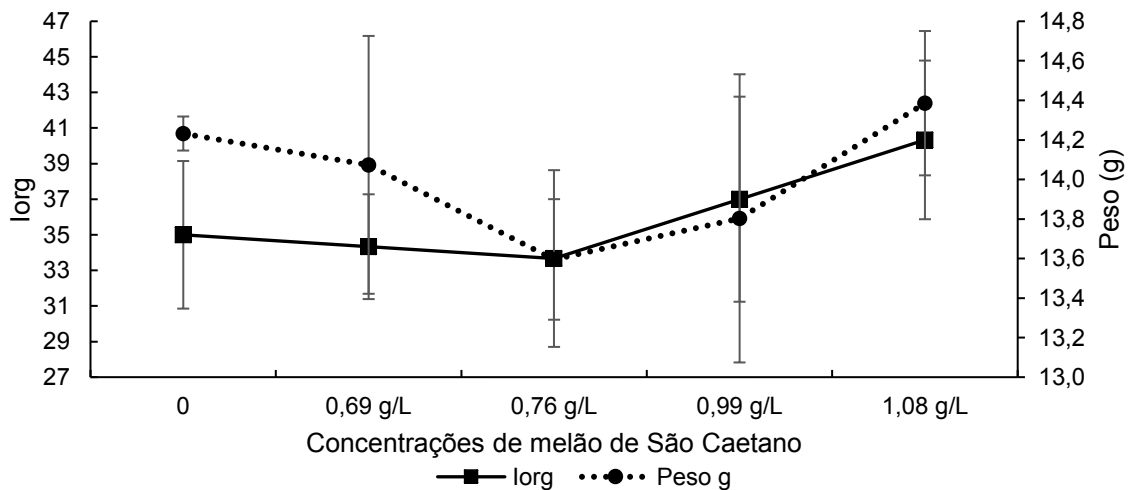
FIGURA 14 - MÉDIA DO ÍNDICE ORGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS DOS ALEVINOS DE TILAPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRONICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L.



FONTE: O autor (2010).

Nas concentrações mais altas tiveram alevinos com pesos médios e índice de lesões (Iorg) maiores sendo a concentração de 0,99 e 1,08 g/L com alevinos de 13,8 e 14,3g e Iorg de 37 e 40,33 respectivamente, em concentrações menores o índice de lesão foi menor, sendo para a concentração 0 e 0,69/l os índices de 35 e 34,3 respectivamente (Figura 15).

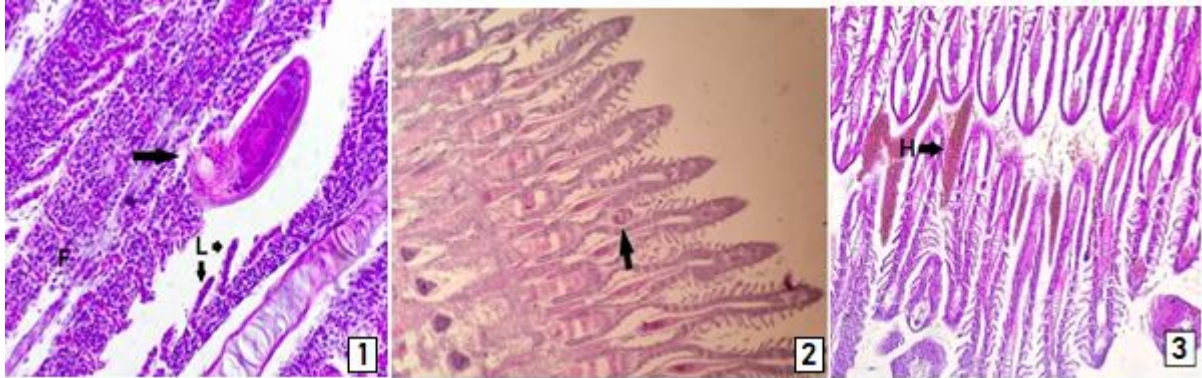
FIGURA 15 - MÉDIA DO ÍNDICE ORGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS, E PESO (MÉDIA±DP) DOS ALEVINOS DE TILÁPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRÔNICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L. NA ÚLTIMA SEMANA DE EXPERIMENTO.



FONTE: O autor (2010).

Na análise histológica foram encontrados parasitas branquiais da classe Monogenidea, os quais foram registrados, inclusive, provocando hemorragias em algumas brânquias (Figura 16).

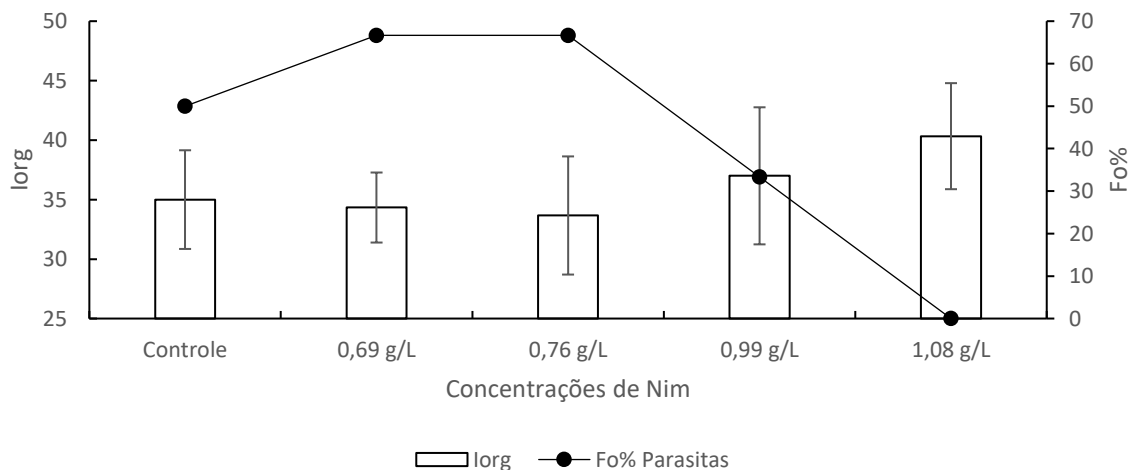
FIGURA 16 - IMAGEM-1; SETA INDICANDO UM PARASITA BRANQUIAL DA CLASSE MONÓGENA EM UM FILAMENTO BRANQUIAL (F), E LAMELAS BRANQUIAIS (L) DE UM PEIXE SUBMETIDO A CONCENTRAÇÃO 8/L CORRESPONDENTE A CL50(24H) DO E EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO, AUMENTO DE (10X, 40X). IMAGEM-2; INDICANDO UM PARASITA DA CLASSE MONOGENEA ENTRE DUAS LAMELAS, (10X, 10X) NO CONTROLE (SEM EXTRATO DE MELÃO DE CÃO CAETANO). IMAGEM-3; HEMORRAGIA (H), AUMENTO DE (10X, 10X).



FONTE: O autor (2010).

A frequência de ocorrência de parasitas nas brânquias dos alevinos de tilápia, diminuiu com o aumento da concentração de extrato de melão de São Caetano (Figura 17). Isso, possivelmente, indica uma atividade anti-parasitária do extrato hidroalcoólico das folhas de melão de São Caetano.

FIGURA 17 - MÉDIA DO ÍNDICE ORGÃO IORG (MÉDIA±DP) DAS BRANQUIAS, E FREQUENCIA DE OCORRÊNCIA (FO%) DE PARASITA NAS BRANQUIAS DOS ALEVINOS DE TILAPIA UTILIZADAS PARA O ENSAIO CRONICO DE TOXICIDADE DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO NAS CONCENTRAÇÕES DE CL50(24H) = 0,69 g/L, CL50(48H) = 0,76 g/L, CL99(24H) = 0,99 g/L, CL99(48H) = 1,08 g/L. NA ÚLTIMA SEMANA DE EXPERIMENTO.



FONTE: O autor (2010).

5 DISCUSSÃO

5.1 EFEITO DO EXTRATO DE NIM SOBRE AS NINFAS DE ODONATA

As concentrações necessárias de nim para provocar mortalidade nas Odonata foram superiores, sendo a CL₅₀(24h) 1,45 e CL₉₉(24h) de 1,87 g/L quando comparado com trabalhos realizados com outras partes desta planta para outros insetos. Em um teste realizado com pupas de *Culex pipiens* por Alouani; Rehim; Soltani, (2009) estimou-se a CL₅₀ (24 e 48h) em 15,25 mg/L e 12,70 mg/L com o uso de extrato metanólico das sementes de nim. Em larvas de *Anopheles stephensi* Batabyal et al. (2007) usando extrato metanólico da semente, estimaram uma CL₅₀ (24h) de 131,32 mg/L. O potencial bioinseticida apresentado pelo extrato das folhas de nim pode ser justificado pelo tipo de extrato preparado, bem como a parte da planta que foi utilizada, o que pode ter concentrado menos substâncias bioativas .

Existem várias formas de obtenção dos compostos bioativos do nim, sendo que os mais utilizados para obtenção de substâncias com potencial inseticida estão os extratos: aquosos, hidroalcoólicos, metanólico e hexânico e óleo (ESPARZA-DÍAZ et al., 2010). O óleo de nim obtido através de prensagem mecânica das sementes e frutos, ou com uso de extratores Soxhlet (PAES et al., 2015) é a forma mais utilizada no controle de insetos, pois concentra mais compostos bioativos (ENGINEERING, 2018; FORIM et al., 2010; ZANUNCIO et al., 2016). No entanto a extração do óleo do nim, requer metodologias onerosas (NDIONE et al., 2007), e um custo de produção alto quando comparado com outras formas de extração. No entanto a forma mais barata, e com relativa eficiência é o extrato alcoólico (NILE et al., 2018), o extrato alcoólico, preparado e utilizado no presente estudo, além de ser de fácil confecção, ainda pode ser mais eficiente quando comparado com o extrato aquoso, pois apresenta uma maior quantidade de compostos inseticidas como a azadiractina, os quais são altamente solúveis em álcool (ESPARZA-DÍAZ et al., 2010; MOURÃO et al., 2004).

Os principais compostos com efeito inseticida presente no nim são a azadiractina A e B e estão presentes em maior quantidade no fruto e sementes e em menor quantidades nas folhas (DAHIYA et al., 2016; LEE et al., 2013; MORDUE;

NISBET, 2000). O que pode justificar a baixa eficiência do extrato usado no presente trabalho.

Em um estudo com o ácaro *Iphiseiodes zuluagai*, realizado por Mourão et al., (2004), o extrato alcoólico da semente foi mais eficiente com CL₅₀ (24h) estimada em 15,89 g/L quando comparado com o extrato de folhas CL₅₀ (24h) igual a 121,40 g/L. Importante ressaltar que os valores obtidos no presente experimento com Odonata, foram inferiores aos encontrados no estudo citado anteriormente, mas que possivelmente a baixa eficiência comparada a outros estudos, também se deu devido ao uso das folhas para a confecção do extrato hidroalcoólico,

Azadiractina apresenta diversos efeitos tóxicos em insetos, dentre eles podemos citar os efeitos antimitóticos, e a supressão da fecundidade e esterilização (NDIONE et al., 2007), no entanto, mais importante é a interferência no sistema endócrino responsável pela regulação do crescimento, impedindo o desenvolvimento da ecdise (ARAÚJO et al., 2009) o que tem grande efeito sobre a metamorfose dos insetos, impedindo seu crescimento e desenvolvimento (ROSEMARY; NESTOR; ABALIS, 2018). Em relação aos efeitos citados, é importante considerar que a azadiractina é estruturalmente semelhante aos hormônios dos insetos conhecidos como ecdisonas, que são os hormônios responsáveis pela metamorfose (CHAUDHARY et al., 2017; MORDUE; NISBET, 2000), influenciando diretamente a biossíntese desses ecdisteróides (MITCHELL et al., 1997). Além do processo de muda, outras funções fisiológicas nos insetos são controladas pela ação neuro-hormonal, dentre elas a síntese de proteínas, reprodução e diapausa (MARTINEZ; VAN EMDEN, 2001). Odonata expostas ao extrato de nim, no presente trabalho, eram comumente encontradas mortas na metade das mudas (ecdise), o que reforça essa hipótese.

Vários estudos na literatura utilizaram o extrato de nim em agroecologia, e estes foram testados em várias classes de insetos que são pragas na agricultura, dentre esses, larvas de: Lepidoptera (AHMAD et al., 2018; BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001; GANDA et al., 2019; MOHAMED ADEL et al., 2019; MOHAMED et al., 2018) (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2007), Diptera (CHIFFELLE G; HUERTA F; LIZANA R, 2009; PROPHIRO et al., 2008; RAO; REUBEN; NAGASAMPAGI, 1995), (NAIR; MORSE; MARSHALL, 2015) e Coleoptera (NAIR;

MORSE; MARSHALL, 2015; NIRANJANA; KARUNAKARAN, 2019). No entanto o uso de extrato de nim em Odonata, consideradas pragas na aquicultura, é pouco relatado, mas podemos citar o estudo de Tomazelli Júnior et al. (2011) com o gênero *Neuraeschna*, que preda alevinos de carpa comum. Nosso estudo buscou investigar o gênero *Pantala*, que causa grande predação na tilapicultura, que é a espécie de peixe de água doce mais cultivada no país, o que reforça a importância do presente trabalho.

5.2 EFEITO DO EXTRATO DE CINAMOMO SOBRE AS NINFAS DE ODONATA.

O extrato de cinamomo, teve resultados de mortalidade em relação a concentração próximos do extrato de nim, com valores de CLs bem parecidos. Isso pode ter ocorrido devido as duas plantas fazerem parte da família Meliaceae, compartilhando assim características taxonômicas e composição química (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001).

O cinamomo também é amplamente utilizado no controle de fases larvais e adultos de insetos na agricultura, com o objetivo de torná-la mais sustentável (EFAT ABOU-FAKHR HAMMAD et al., 2019). O mesmo é usado nos mais diversos grupos de insetos, como no combate às larvas de Lepidoptera, em diversos cultivos (BINA; JAVADI; IRAVANI, 2017; BOTTEGA et al., 2018; TILNEY; NEL; VAN WYK, 2018), Diptera (ILAHY, 2012; PROPHIRO et al., 2008), e Coleoptera (JAZZAR; ABOU-FAKHR HAMMAD, 2003; NAIR; MORSE; MARSHALL, 2015; RAJA et al., 2015). Em larvas de *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, o extrato dessa planta provocou pouco mais de 50% de mortalidade com a concentração de 20 mg/L em um estudo realizado por Selvaraj; Mosses (2011). Para larvas de *Aedes aegypti* foi determinada a CL₅₀ em 24h de 1,66 g/L, usando extrato etanólico liofilizado da semente Wandscheer et al., 2004), resultado semelhante ao observado no presente estudo para Odonata (1,5 g/L).

Na aquicultura poucos trabalhos são realizados, sendo possível encontrar apenas um estudo realizado por Tomazelli et al., (2016) no controle de larvas do gênero *Neuraeschna*. Tornando de grande valor os estudos realizados com extratos vegetais no controle de insetos aquáticos na aquicultura.

O cinamomo partilha alguns grupos de compostos do nim, sendo eles os alcaloides, flavonoides, fenóis, taninos, saponinas, esteroides, limonóides e terpenóides (ERVINA; SUKARDIMAN, 2018; FEYERA FUFA et al., 2018; SARIOSSEIRI et al., 2018; ZENG et al., 2019), além de subcompostos importantes como o meliantriol, melianone e melianol (NAZAR et al., 2014). Essas substâncias concentram fitotoxinas chamadas de meliatoxinas, as quais estão presentes em toda parte da planta, concentrando-se no fruto (DADÉ et al., 2018). O efeito tóxico desse composto, em insetos, está relacionado principalmente as disfunções no processo de ecdise, devido a sensibilidade que esses organismos tem aos compostos terpenóides (PATRA; THATOI, 2011; TOMAZELLI et al., 2016).

5.3 EFEITO DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO SOBRE AS NINFAS DE ODONATA.

O extrato de melão de São Caetano, em concentrações menores, foi mais eficiente em causar mortalidade das Odonata, quando comparado com os extratos de nim e cinamomo, com valores de CL_{50} 24 e 48 h de 0,76 g/L e 0,69 g/L, respectivamente; já para CL_{99} em 24 e 48 h de 1,08 g/L e 0,99 g/L, respectivamente. O melão de São Caetano possui grandes quantidades de compostos terpenóides do tipo cucurbitano, além de ácidos graxos e compostos fenólicos (MOZANIEL et al., 2018). No entanto, seu uso como inseticida é pouco relatado, sendo mais comum o uso medicinal dessa planta (FREIRE; SOUSA; LEMOS, 2006; MEERA; NAGARJUNA, 2009; PEREIRA et al., 2016), principalmente no controle do diabetes humano (GAO et al., 2018; JIANG et al., 2016; LO et al., 2017), além do uso anti-helmíntico (CAGAUAN; GALAITES; FAJARDO, 2007; PEREIRA et al., 2016) .

Por conter uma ampla variedade de compostos terpenóides e compostos fenólicos, espera-se que os extratos do melão de São Caetano possua efeito inseticida (NUR ATIQA; CHONG, T.V ROZEITA, 2015) e larvicida (BATBYAL et al., 2007; GANDHI et al., 2017). Como foi relatado por Liu et al., (2015) em estudo com os compostos momordicinas 1 e 2, isolados de melão de São Caetano, no controle de pupas Lepidoptera *Spodoptera litura*, observou-se que após 24 horas de exposição à 49,42 µg/ mL de momordicina I e II, inúmeras deformações, e mudança no tamanho das células do citoesqueleto, alterações na membrana celular. Ademais, após 48

horas, os mesmos autores, verificaram lesões nas células do citoesqueleto, deformação do vacúolo e vazamento de citoplasma. Essas mesmas alterações celulares foram observadas no trabalho de Guo et al., (2018) com pupas de *Spodoptera* usando 20 µg/mL durante um período de 24 h .

Rahuman; Venkatesan (2008) estudando o efeito do extrato etanólico de melão de São Caetano sobre larvas de *Aedes aegypti*. e *Culex quinquefasciatus* verificaram efeito larvicida moderado para esses insetos com CL50 (24h) estimada em 199 a 207 mg/L. Prabakar; Jebanesan (2004) em estudo sobre o efeito do extrato metanólico de folhas dessa planta em *Culex quinquefasciatus*, estimaram uma CL50 (24h) de 465 mg/L.

5.4 EFEITO DO EXTRATO DE MELÃO DE SÃO CAETANO SOBRE OS ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO

No teste crônico com alevinos de tilápia do Nilo não foi verificada mortalidade com o uso do extrato de melão de São Caetano. Essa planta é conhecida por suas características fitoterápicas, e talvez isso tenha alguma relação com presente trabalho. No entanto alguns trabalhos indicam que o extrato de melão de São Caetano pode ser tóxico aos peixes. Cagauan; Galaites; Fajardo (2007) em seu trabalho com toxicidade do extrato de aquoso na proporção um grama de folhas para 2 mL de água, para alevinos de tilápia do Nilo, obtiveram uma CL100 em um período de 24 horas igual a 2,59 g/L. No entanto a metodologia utilizada pelo autor pode ter subestimado esse valor, pois não houve extração de compostos, e sim uma mistura das folhas com a água (CAGAUAN; GALAITES; FAJARDO, 2007).

No presente trabalho houve uma diminuição na frequência de ocorrência de parasitas nas brânquias dos alevinos, em um estudo realizado por Pereira et al., (2016), foi verificado que o extrato de folhas liofilizado, foi eficiente contra o trematódeo *Fasciola hepática* nas concentrações acima de 0,1g/L.

Os extratos hidroalcoólico de folhas de nim, cinamomo e melão de São Caetano são opções baratas no controle de insetos aquáticos, no entanto mais estudos se fazem necessários para que otimizar ou concentrar os compostos inseticidas e antiparasitários e tornar viáveis para seus usos comerciais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nim, cinamomo e melão de São Caetano, na forma de extrato hidroalcoólico das folhas, apresentaram potencial inseticida para as ninfas de Odonata, contudo são necessárias altas concentrações para provocar mortalidade nesses animais, o que pode não ser viável economicamente.

O extrato de melão de São Caetano não apresentou toxicidade aos alevinos de tilápia do Nilo, não causando mortalidade, nem influenciando no peso desses em animais. Concentrações mais altas desse extrato diminuíram os parasitas branquiais nos peixes, mas também provocaram lesões quando comparado concentrações mais baixas, por entretanto essas lesões não tiveram resultados significativos quando comparado com o controle.

Conclui-se que dentre os extratos estudados, o melão de São Caetano apresenta maior potencial inseticida contra larvas de Odonata, não apresenta toxicidade ao alevinos de tilápia, no entanto são necessários estudos de bioacumulação nos tecidos dos alevinos, bem como um estudo de mais profundo da interação desse extrato com outros indivíduos que fazem parte do meio aquático como a comunidade planctônica.

7 REFERÊNCIAS

AHMAD, B. et al. Toxicity Potential of Different Azadirachtin against *Plutella Xylostella* (Lepidoptera; Plutellidae) and its Natural Enemy, Diadegma Species. **Agron Agri Sc**, v. 003, n. 1, p. 7, 2018.

AJIBADE, A. O.; AJANI, E. K.; OMITOYIN, B. OLUWAROTIMI. The predatory behaviour of nymphs of dragonfly (*Africocypha varicolor*) on fry of African mud catfish (*Clarias gariepinus*) and control by skunk weed (*Petivera alliacea*) root-extract in aquaculture. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 08, n. 03, p. 2–5, 2017.

AL-RUBAE, A. Y. The Potential Uses of *Melia Azedarach* L. as Pesticidal and Medicinal Plant, Review. **Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 3, n. 2, p. 185–194, 2009.

- ALIERO, B. L. Larvaecidal effects of aqueous extracts of *Azadirachta indica* (neem) on the larvae of Anopheles mosquito. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 9, p. 325–327, 2003.
- ALOUANI, A.; REHIMI, N.; SOLTANI, N. Larvicidal Activity of a Neem Tree Extract (Azadirachtin) Against Mosquito Larvae in the Republic of Algeria. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 15–22, 2009. 1.
- ALZOHAIRY, M. A. Therapeutics role of *azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, n. 1, p. 1–11, 2016.
- AMEDE, S. C. et al. Morfo-anatomia e histoquímica foliar de *Azadirachta indica* a. Juss (neem) (meliaceae), cultivadas em goiás. **RENEFARA**, v. 10, n. 10, p. 214–223, 2017.
- ANNISA, R. et al. Toxicity study of pare leaf extracts (*Momordica charantia*) to culex pipiens mosquito larvae. **J. Islamic Pharm**, v. 2, n. 2, p. 63–63, 2010.
- ARAÚJO, S. A. C. De et al. Usos Potenciais de *Melia azedarach* L. (Meliaceae): um levantamento. **Arq. Inst.Biol.**, v. 76, n. 1, p. 141–148, 2009.
- ARENA, J. S. et al. Effects of *Melia azedarach* extract on natural enemies of aphids. **Biopesticides International**, v. 11, n. June, p. 1–11, 2015.
- ASOGWA, E. U. et al. Prospects of botanical pesticides from neem, *Azadirachta indica* for routine protection of cocoa farms against the brown cocoa mirid - *Sahlbergella singularis* in Nigeria. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 1, p. 001–006, 2010.
- ASSIS, J. P. et al. Avaliação biométrica de caracteres do melão de são caetano (*Momordica charantia*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 505–514, 2015.
- BARBOSA, M. S. et al. Odonate communities of the sucupira reservoir, Rio Uberabinha, Minas Gerais, Brazil. **Papeis Avulsos de Zoologia**, v. 59, p. 1–10, 2019.
- BARISIC, J.; CANNON, S.; QUINN, B. Cumulative impact of anti-sea lice treatment (azamethiphos) on health status of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) in aquaculture. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 16217, 2019.
- BASCH, E.; GABARDI, S.; ULBRICHT, C. Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. **Am J Health-Syst Pharm**, v. 60, p. 356–359, 2003.
- BATABYAL, L. et al. Larvicidal Efficiency of Certain Seed Extracts Against *Anopheles Stephensi*, with Reference to *Azadirachta indica*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 10, n. 3, p. 251–255, 2007.
- BENELLI, G. et al. Neem (*Azadirachta indica*): towards the ideal insecticide? **Natural Product Research**, v. 31, n. 4, p. 369–386, 2017.
- BERNET, D. et al. Histopathology in fish : proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases** 1999, v. 22, p. 25–34, 1999.

- BINA, S.; JAVADI, I.; IRAVANI, O. Evaluation of the Repellency Effect of Neem (*Melia azedarach*) Plant Extracts Based on the Mittler & Dadd Method. **Journal of Agricultural Chemistry and Environment**, v. 06, n. 04, p. 165–174, 2017.
- BING, L. et al. Studies on Antifeeding Activity and Active Ingredients against *Plutella xylostella* from *Momordica charantia* Leaves. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 10, 2008.
- BLOIS, C. The larval diet of three anisopteran (Odonata) species. **Freshwater Biology**, v. 15, n. 4, p. 505–514, 1985.
- BORGES, L. R. et al. Dragonflies and damselflies (Insecta: Odonata) from a cerrado area at triângulo mineiro, minas gerais, brazil. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 1, 2019.
- BOTTEGA, D. B. et al. Atratividade, consumo e mortalidade de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro tratado com óleo de *Melia azedarach*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 454–463, 2018.
- BREUER, M. et al. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, n. 3, p. 99–103, 2003.
- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 455–459, 2001.
- BUMROONGSOOK, S. Insecticide Usage in Lotus-Fish Farming and Its Impact on Fish Culture and Grower Health. In: IOP CONFERENCE SERIES: EARTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCE 2018, **Anais...** : Institute of Physics Publishing, 2018.
- BÜSSE, S.; HÖRNSCHEMEYER, T.; GORB, S. N. The head morphology of *Pyrrhosoma nymphula* larvae (Odonata: Zygoptera) focusing on functional aspects of the mouthparts. **Frontiers in Zoology**, v. 14, n. 1, p. 25, 2017.
- CAGAUAN, A. G.; GALAITES, M. C.; FAJARDO, L. J. **Evaluation of botanical piscicides on nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. and mosquito fish *Gambusia affinis* Baird and Girard.**, 2007.
- CARLINI, C. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. **Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides**, 2002.
- CARRINGTON DA COSTA, R. B. et al. INTOXICAÇÕES AGUDAS POR COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS. **Acta medica portuguesa**, v. 1, n. 4–6, p. 291–295, 1988.
- CASTILLO-SÁNCHEZ, L. E.; JUAN JOSÉ JIMÉNEZ-OSORNIO; MARÍA DELGADO-HERRERA. Secondary metabolites of the annonaceae, solanaceae and meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, n. 3, p. 445–462, 2010.
- CHANDRA, J. et al. A review on the toxicity and other effects of Dichlorvos, an organophosphate pesticide to the freshwater fish. **Bioscience Discovery**, v. 8, n. 3,

p. 402–415, 2017.

CHANDRAVADANA, M. V. IDENTIFICATION OF TRITERPENOID FEEDING DETERRENT OF RED PUMPKIN BEETLES (*Aulacophora foveicollis*) FROM *Momordica charantia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, n. 7, p. 1690–1694, 1987. 7.

CHAUDHARY, S. et al. Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–13, 2017.

CHIFFELLE G, I.; HUERTA F, A.; LIZANA R, D. Physical and Chemical Characterization of *Melia azedarach* L. Fruit and Leaf for Use as Botanical Insecticide. **Chilean journal of agricultural research**, v. 69, n. 1, p. 38–45, 2009.

CORBET, P. S. **A biology of dragonflies aspects of Zoology**. 1. ed. London, W.C.: H. F. & G. WITHERBY LTD., 1962.

CORBET, P. S. Stadia and growth ratios of odonata: A review. **International Journal of Odonatology**, v. 5, n. 1, p. 45–73, 2002.

CUÉLLAR-CARDOZO, J.; JARAMILLO, M. A.; CASTRO-REBOLLEDO, M. Los odonatos del bosque seco tropical de colombia. Una revisión. **Revista Facultad de Ciencias Básicas**, v. 14, n. 1, p. 44–58, 2018.

DADÉ, M. et al. Repellent and Lethal Activities of Extracts From Fruits of Chinaberry (*Melia azedarach* L., Meliaceae) Against *Triatoma infestans*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, p. 8, 2018.

DAHIYA, N. et al. In vitro and ex vivo activity of an *Azadirachta indica* A.Juss. seed kernel extract on early sporogonic development of Plasmodium in comparison with azadirachtin A, its most abundant constituent. **Phytomedicine**, v. 23, n. 14, p. 1743–1752, 2016.

DELGADO, C.; ALCÁNTARA, F.; COUTURIER, G. Densidad de larvas de odonatos (Insecta) en un estanque de piscicultura en Iquitos. **Rev. per. Enc**, p. 101–102, 1995.

DOS REIS, E. F. et al. Efeito da Integridade Ambiental Sobre a Assimetria Flutuante em *Erythrodiplax basalis* (Libellulidae: Odonata) (Kirby). **EntomoBrasilis**, v. 4, n. 3, p. 103–107, 2011.

DOSHI, S. S.; SHENDAGE, A. N.; KHYADE, V. B. The monoterpene compounds for juvenile hormone activity through changes in pattern of chitin deposition in the integument of fifth instar larvae of silkworm, *Bombyx mori* (L) (PM x CSR2) - World Scientific News - Tom 37 (2016) - Biblioteka Nauki - Yadda. **World Scientific News**, v. 37, n. 2392–2192, p. 179–201, 2016.

DUDOVÁ, P.; BOUKAL, D. S.; KLECKA, J. Prey selectivity and the effect of diet on growth and development of a dragonfly, *Sympetrum sanguineum*. **PeerJ**, p. 19, 2019.

EFAT ABOU-FAKHR HAMMAD et al. Bioactivity of Indigenous *Melia azedarach* Extracts against the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta*. **Journal of Agricultural Science and Technology A**, v. 9, n. 1, p. 8–25, 2019.

ENGINEERING, B. The potential of neem seed oil (*azadirachta indica*) as natural household insecticide. **ournal of Engineering and Technology**, v. 12, n. 1, p. 30–35, 2018.

ERVINA, M.; SUKARDIMAN. A review: *Melia azedarach* L. as a potent anticancer drug. **Pharmacognosy Reviews**, v. 12, n. 23, p. 94–102, 2018.

ESPARZA-DÍAZ, G. et al. Concentración de azadiractina, efectividad insecticida y fitotoxicidad de cuatro extractos de *Azadirachta indica* A. Juss. **Agrociencia**, v. 44, n. 7, p. 821–833, 2010.

FERREIRA-PERUQUETTI, P. S.; FONSECA-GESSNER, A. A. Comunidade de Odonata (Insecta) em áreas naturais de Cerrado e monocultura no nordeste do Estado de São Paulo, Brasil: relação entre o uso do solo e a riqueza faunística. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 2, p. 219–224, 2003.

FEYERA FUFA, M. et al. Isolation and Characterization of Compounds from the Leaves of *Melia azedarach* and Stem Bark of *Albizia schimperiana* and Evaluation for Antimicrobial Activities. **Medicinal Chemistry**, v. 08, n. 06, 2018.

FINNEY, D. J. **Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve**. [s.l.]: Cambridge university press, Cambridge, 1952.

FONSECA, A. R. et al. Levantamento de espécies de Odonata associadas à tanques de piscicultura e efeito de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis sobre ninfas de *Pantala flavescens* (Fabricius, 1798) (Odonata: Libellulidae). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 25–29, 2004.

FORIM, M. R. et al. Chemical characterization of *Azadirachta indica* grafted on *Melia azedarach* and analyses of azadirachtin by HPLC-MS-MS (SRM) and meliatoxins by MALDI-MS. **Phytochemical Analysis**, v. 21, n. 4, p. 363–373, 2010.

FREIRE, C. K. B.; SOUSA, E. O.; LEMOS, T. L. G. Avaliação das atividades antimicrobianas e toxicidade de *Momordica charantia* L. Cucurbitaceae. **Cadernos de Cultura e Ciencia**, v. 1, n. 1, p. 63–67, 2006.

FULAN, J. Â.; HENRY, R. Variação anual da biomassa de Telebasis (odonata: coenagrionidae), junto à *Eichhornia azurea* (sw.) Kunth, na lagoa do camargo (lateral ao rio paranapanema, São Paulo). **Estudos de Biologia**, v. 30, n. 70/72, p. 117–123, 2008.

GANDA, H. et al. Effectiveness of neem seed oil (*Azadirachta indica* A. Juss: Meliaceae) on *Syllepte derogata* Fabricius, Lepidoptera: Pyralidae. **Journal of Applied Biosciences**, v. 129, n. 1, p. 13029, 2019.

GANDHI, P. R. et al. Acaricidal, pediculicidal and larvicidal activity of synthesized ZnO nanoparticles using *Momordica charantia* leaf extract against blood feeding parasites. **Experimental Parasitology**, v. 181, p. 47–56, 2017.

GAO, H. et al. Polysaccharide from fermented *Momordica charantia* L. with *Lactobacillus plantarum* NCU116 ameliorates type 2 diabetes in rats. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 624–633, 2018.

GLUSCZAK, L. et al. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 146, n. 4, p. 519–524, 2007.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. de C. R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade do extrato aquoso de sementes de nim sobre *tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em três formas de aplicação. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 28–34, 2007.

GUIMARÃES, A. T. B. et al. Effects of trichlorfon used in the treatment of parasitosis on biological metrics of farmed *Ctenopharingodon idella* (Valenciennes, 1844). **Archives of Veterinary Science**, v. 24, n. 2, p. 61–72, 2019.

GUO, Z. et al. Evaluation of Cytotoxic Activity in vitro of Charantin A Extracted from *Momordica charantia*. **Nat. Prod**, v. 12, p. 416–425, 2018. Disponível em: <<http://doi.org/10.25135/rnp.61.17.12.190>>. Acesso em: 23 nov. 2019.

HASAN, M. et al. Impacts of pesticide on the physico-chemical variables and zooplankton abundance of argulus sp. müller infected brood carp pond. **Dhaka University Journal Biology**, v. 23, n. 2, p. 101–107, 2014.

HECKMAN, C. W. **Illustrated Keys to Known Families, Genera, and Species in South America Introduction**. 1. ed. Dordrecht, Netherland: Springer, 2008.

HOPPEN, M. I. et al. Espécies exóticas na arborização de vias públicas no município de Farol, PR, Brasil. **REVSBAU**, v. 9, n. 3, p. 173–186, 2014.

ILAHÍ. Larvicidal Activities of Different Parts of *Melia azedarach* Linn. against *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae). **Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 8, n. 1, p. 23–28, 2012.

JAZZAR, C.; ABOU-FAKHR HAMMAD, E. The efficacy of enhanced aqueous extracts of *Melia azedarach* leaves and fruits integrated with the *Camptotylus reuteri* releases against the sweetpotato whitefly nymphs. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 2, p. 269–275, 2003.

JENSEN, E. M. et al. A selection study on a laboratory-designed population of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) using organophosphate and pyrethroid pesticides. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–15, 2017. a.

JENSEN, E. M. et al. A selection study on a laboratory-designed population of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) using organophosphate and pyrethroid pesticides. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–15, 2017. b.

JIANG, B. et al. Antidiabetic activities of a cucurbitane-type triterpenoid compound from *Momordica charantia* in alloxan-induced diabetic mice. **Molecular Medicine Reports**, v. 14, n. 5, p. 4865–4872, 2016.

JOSEPH, J. K.; ANTONY, V. T. Ethnobotanical investigations in the genus *Momordica* L. in the Southern Western Ghats of India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 5, p. 713–721, 2008.

KAMARAJ, C. et al. Insecticidal and larvicidal activities of medicinal plant extracts against mosquitoes. **Parasitology Research**, v. 107, n. 6, p. 1337–1349, 2010.

KAVITHA, P.; VENKATESWARA RAO, J. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 87, n. 2, p. 182–188, 2007.

KHAN, H. R. et al. Effect of Toxicity of Neem (*Azadirachta Indica* a . Juss) and Mohaneem (*Melia Azedarach* Linnaeus) on the Larvae of Mosquito Culex Quinquefasciatus (Say) (Diptera : Culicidae). **J. Asiat. Soc.**, v. 42, n. December, p. 209–218, 2016.

KUMAR, D. S. et al. A medicinal potency of *Momordica charantia*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 96–100, 2010.

KUMAR, M. M.; KUMARI, B. S. Histopathological changes in the gills of fresh water fish, *Catla catla* exposed to electroplating effluent. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 5, n. 4, p. 13–16, 2016.

KUMAR, R. et al. Chemical components and insecticidal properties of bakain (melia azedarach l.)- a review. **Agric.Rev**, v. 24, n. 2, p. 101–115, 2003.

KUMAR, V. S.; NAVARATNAM, V. Neem (*Azadirachta indica*): Prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 7, p. 505–514, 2013.

KURAVADI, N. A.; GOWDA, M. Phylogeny of Neem and Related Species in the Meliaceae Family. In: [s.l: s.n.]. p. 49–51.

LAGUNOVSKI-LUCHIAN, V. et al. Studies and research regarding acclimatization and breeding of new vegetable plant, *Momordica charantia* at V.R.D.S. Buzău, Româ. **The EuroBiotech Journal**, v. 82, n. 1, 2017.

LEE, J.-W. et al. Investigation on the insecticidal limonoid content of commercial biopesticides and neem extract using solid phase extraction. **Journal of Agricultural Chemistry and Environment**, v. 02, n. 04, p. 81–85, 2013.

LIRA DE MEDEIROS, P. et al. Growth and Distribution of Fine Roots of Neem (*Azadirachta Indica*) Under Two Farming Methods in the Northeast of Brazil. **International Journal of Agriculture Sciences**, v. 9, n. 11, 2017.

LIU, H. et al. The cytotoxicology of momordicins I and II on *Spodoptera litura* cultured cell line SL-1. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 122, p. 110–118, 2015.

LO, H.-Y. et al. Gastro-Resistant Insulin Receptor-Binding Peptide from *Momordica charantia* Improved the Glucose Tolerance in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice via Insulin Receptor Signaling Pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 42, p. 9266–9274, 2017.

MAHMOUD, D. M. et al. Larvicidal potential and ultra-structural changes induced after

treatment of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) larvae with some botanical extracted oils. **International Journal of Mosquito Research**, v. 6, n. 4, p. 01–09, 2019.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. De; GARCIA, F. R. M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 6, n. 2, p. 92–112, 2013.

MARTINEZ, S. S.; VAN EMDEN, H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 113–125, 2001.

MEERA, S.; NAGARJUNA, C. G. Antistress and immunomodulatory activity of aqueous extract of *Momordica charantia*. **Pharmacognosy Magazine**, v. 5, p. 69–73, 2009.

MEUTTER, F. Van de; COTTENIE, K.; MEESTER, L. De. Exploring differences in macroinvertebrate communities from emergent, floating-leaved and submersed vegetation in shallow ponds. **Fundamental and Applied Limnology**, v. 173, n. 1, p. 47–57, 2008.

MINTON, N. A.; MURRAY, V. S. G. A Review of Organophosphate Poisoning. **Medical Toxicology and Adverse Drug Experience**, v. 3, n. 5, p. 350–375, 1988.

MITCHELL, M. J. et al. Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 35, n. 12, p. 199–209, 1997.

MOHAMED ADEL, M. et al. Suneem oil inhibits physiological activity of *Spodoptera Littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). **EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci**, v. 13, p. 1311–1316, 2019.

MOHAMED, J. et al. Effects of Neem [*Azadirachta indica*] Leaf and Seed Kernel Extracts on the Hairy Leaf Caterpillar-Eupterote mollifera [Bombycidae: Lepidoptera]. **Research Paper. Biological Sciences**, v. 5, n. 6, p. 70–74, 2018.

MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615–632, 2000.

MORGAN, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4096–4105, 2009.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. juss): Múltiplos usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 139–148, 2005.

MOURÃO, S. A. et al. Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* (Denmark & Muma) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 613–617, 2004.

MOZANIEL, S. de O. et al. Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae): A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 27, p. 829–846, 2018.

- MUNGKALASIRI, J.; PAENGJUNTUEK, W. Energy Analysis of Hydrogen Production from Biomass in Thailand. **Science & Technology Asia**, v. 19, n. 1, p. 26–32, 2016.
- NAIR, G. A.; MORSE, J. C.; MARSHALL, S. A. Aquatic insects and their societal benefits and risks. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 3, p. 171–177, 2015.
- NAZAR, A. et al. Evaluation of the Performance of *Melia Azedarach* for Skin Wound Healing in Donkeys: Clinical and Histopathological Study. **American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, p. 9, 2014.
- NDIONE, R. D. et al. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 24, p. 2846–2854, 2007.
- NILE, A. S. et al. Nematicidal potential and specific enzyme activity enhancement potential of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) aerial parts. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 5, p. 4204–4213, 2018.
- NIRANJANA, R. F.; KARUNAKARAN, S. valuation of botanical extracts against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) on different host grains. **Journal of Science**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2019.
- NIROUMAND, M. C. et al. An evidence-based review on medicinal plants used as insecticide and insect repellent in traditional Iranian medicine. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 2, p. 1–8, 2016.
- NTALLI, N. G. et al. Cytotoxic tirucallane triterpenoids from *Melia azedarach* fruits. **Molecules**, v. 15, n. 9, p. 5866–5877, 2010.
- NUR ATIQA, M. ; CHONG, T.V ROZEITA, L. Insecticidal and antifeedant activity of *Momordica charantia* aqueous extract against cutworm, *spodoptera litura*(f.) (lepidoptera: noctuidae) larvae. **Serangga**, v. 20, n. 1, p. 13–21, 2015.
- NURHAYATI, D.; SUBCHAN, W.; PRIHATIN, J. The Effect of Extract of Getih-Getihan (*Rivina humilis* L.) on Armyworm (*Spodoptera litura* F.) Mortality. **BIOEDUKASI**, p. 22–30, 2018.
- PAES, J. B. et al. Rendimento e Características Físicas dos Óleos de Nim (*Azadirachta indica*) e Mamona (*Ricinus communis*). v. 22, n. 1, p. 134–139, 2015.
- PASSERINI, J.; HILL, S. B. Field and laboratory trials using a locally produced neem insecticide against the *Sahelian grasshopper*, *Kraussaria angulifera* (Orthoptera: Acrididae), on millet in Mali. **Bulletin of Entomological Research**, v. 83, n. 1, p. 121–126, 1993.
- PATRA, J. K.; THATOI, H. N. Metabolic diversity and bioactivity screening of mangrove plants: A review. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 4, p. 1051–1061, 2011.
- PAUL, A.; RAYCHAUDHURI, S. Medicinal Uses and Molecular Identification of Two *Momordica charantia* Varieties-a review. **Electronic Journal of Biology**, v. 6, n. 2, p. 43–51, 2010.

- PAULSON, D. **Dragonflies and Damselflies-a Natural History**. Canada: Princeton University Press, 2019.
- PENNINGTON, T. D. A monograph of neotropical Meliaceae (with accounts of the subfamily Swietenioideae by B. T. Styles and the chemotaxonomy by D. A. H. Taylor), v. 28, 1981.
- PEREIRA, C. A. J. et al. Anti-helminthic activity of *Momordica charantia* L. against *Fasciola hepatica* eggs after twelve days of incubation in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 160–166, 2016.
- PRABAKAR, K.; JEBANESAN, A. Larvicidal efficacy of some Cucurbitaceous plant leaf extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say). **Bioresource Technology**, v. 95, n. 1, p. 113–114, 2004.
- PRARTHNA DANIEL, U. S.; M.G.ROYMON. A review on Phytochemical analysis of *Momordica charantia*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCES IN PHARMACY, BIOLOGY AND CHEMISTRY**, v. 3(1), n. 2277–4688, p. 215–220, 2014.
- PRISTA, L. V. N. et al. **Tecnologia farmacêutica**. 3. ed. Lisboa-Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian. Serviço de Educação e Bolsas, 2014.
- PROPHIRO, J. S. et al. Leaf extracts of *Melia azedarach* Linnaeus (Sapindales: Meliaceae) act as larvicide against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 560–564, 2008.
- RAFAEL, J. A.; DE MELO, G. A. R.; DE CARVALHO, C. J. B. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. [s.l.] : Holos Editora, 2012.
- RAHUMAN, A. A.; VENKATESAN, P. Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. **Parasitology Research**, v. 103, n. 1, p. 133–139, 2008.
- RAJA, N. et al. Insecticidal Activity of *Melia azedarach* (L.) Plant Extracts Against Cabbage Flea Beetle [*Phyllotreta cruciferae* Goeze (Coleoptera: Chrysomilidae)]. **Journal of Scientific Research**, v. 10, n. 2, p. 50–57, 2015.
- RAMANIBAI, R.; VELAYUTHAM, K. Bioactive compound synthesis of Ag nanoparticles from leaves of *Melia azedarach* and its control for mosquito larvae. **Research in Veterinary Science**, v. 98, p. 82–88, 2015.
- RAO, D. R.; REUBEN, R.; NAGASAMPAGI, B. A. Development of combined use of neem (*Azadirachta indica*) and water management for the control of culicine mosquitoes in rice fields. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, n. 1, p. 25–33, 1995.
- ROSEMARY, U. B.; NESTOR, A. J. F.; ABALIS, O. R. Efficacy of *Azadirachta indica* Leaf Powder and Ethanol Extract on Adult *Periplaneta americana* under Laboratory Condition. **OALib**, v. 05, n. 04, p. 1–14, 2018.
- ROSSI, J. C. N. et al. Efeito larvicida de extratos etanólicos de folhas secas e frutos

maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Aedes albopictus*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 737–740, 2007.

RUFINO, M. R.; SILVINO, A. S.; MORO, M. F. Exóticas, exóticas, exóticas: reflexões sobre a monótona arborização de uma cidade brasileira. **Rodriguésia**, v. 70, p. 1–10, 2019.

SABALIAUSKAS, N. A. et al. High-throughput zebrafish histology. **Methods**, v. 39, n. 3, p. 246–254, 2006.

SANTOS, N. D.; COSTA, J. M.; PUJOL-LUZ, J. R. Notas sobre a ocorrência de Odonata em tanques de piscicultura e o problema da predação de alevinos pelas larvas. **Acta limnol. Brasil**, v. 11, p. 771–780, 1988.

SARIOSSEIRI, A. et al. In vitro acaricidal effect of *Melia azedarach* ripe fruit extract against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Persian Journal of Acarology**, v. 7, n. 2, p. 203–208, 2018.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. A three-genome phylogeny of *Momordica* (Cucurbitaceae) suggests seven returns from dioecy to monoecy and recent long-distance dispersal to Asia. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, n. 2, p. 553–560, 2010.

SCHMUTTERER, H. Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, *Azadirachta Indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 35, n. 1, p. 271–297, 1990.

SCHORR, M.; PAULSON, D. **World Odonata List · University of Puget Sound**. 2019.

SELVARAJ, M.; MOSSES, M. Efficacy of *Melia azedarach* on the larvae of three mosquito species *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of the European Mosquito Control Association ISSN**, v. 29, p. 116–121, 2011.

SEMLITSCH, R. D. Effects of body size, sibship, and tail injury on the susceptibility of tadpoles to dragonfly predation. **Canadian Journal of Zoology**, v. 68, n. 5, p. 1027–1030, 1990.

SHARMA, D.; PAUL, Y. Preliminary and pharmacological profile of *Melia azedarach* L.: An overview. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 12, p. 133–138, 2013.

SHARMA, S. et al. *Momordica charantia* L. (Karela): Nature's silent healer. **Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 11, n. 1, 2011.

SIEGLOCH, A. M. et al. Anatomia da Madeira de *Melia azedarach* L. (Meliaceae). **Balduinia**, n. 50, p. 24, 2015.

SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; REIDEL, A. Predação de pós-larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*, Valenciennes, 1836) por larvas de odonata (*Pantala*, Fabricius,

1798) em diferentes tamanhos. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 95–100, 2003.

SORIANO, E. G.; GUTIÉRREZ, R. N. **Odonata of Mexico revisited**. 1. ed. Jodhpur, Rajasthan, Índia: Scientific Publishers, 2007.

SOUZA, L. O. I.; COSTA, J. M.; OLDRINI, B. B. **Guia on-line de identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo: Odonata Ordem**. 2007.

SOWMYA DHANALAKSHMI, C.; MADHU, P. Biofuel production of neem wood bark (*Azadirachta indica*) through flash pyrolysis in a fluidized bed reactor and its chromatographic characterization. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, p. 1–16, 2019.

T. PÉREZ, A. CÉSPEDES, M. RIVERO, N. MEDRANO, M. C. Acetilcolinesterasa de *Enallagma* sp . (Coenagrionidae: Odonata) en presencia de pesticidas organofosforados, n. May, p. 3–8, 2016.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology: normal and pathological features. 1995.

TAVE, D.; REZK, M.; SMITHERMAN, R. O. Effect of body colour of *Oreochromis mossambicus* (Peters) on predation by dragonfly nymphs. **Aquaculture Research**, v. 21, n. 2, p. 157–162, 1990.

TEIXEIRA, H. et al., 2004. Pesticide intoxications in the Centre of Portugal: Three years analysis. *Forensic Science International*, 143(2-3), pp.199–204.

TILNEY, P. M.; NEL, M.; VAN WYK, A. E. Foliar secretory structures in *Melia azedarach* (Meliaceae), a widely cultivated and often invasive tree. **New Zealand Journal of Botany**, v. 56, n. 2, p. 198–215, 2018.

TOMAZELLI, J. et al. *Melia azedarach* l. Fruit extract as a potential candidate in controlling the *Neuraeschna hagen*, 1867 (odonata: aeshnidae), predominant predators for fish fingerlings. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol.**, v. 20, n. 1, p. 54–61, 2016.

TOMAZELLI JÚNIOR, O. et al. Efeito do extrato de *Melia azedarach* sobre a predação de alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio*) por larvas de *Neuraeschna* (Odonata: Aeshnidae). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19, 2011.

VAN DE MEUTTER, F.; STOKS, R.; DE MEESTER, L. Behavioral linkage of pelagic prey and littoral predators: microhabitat selection by *Daphnia* induced by damselfly larvae. **Oikos**, v. 107, n. 2, p. 265–272, 2004.

VAN DER NAT, J. M. et al. Ethnopharmacognostical survey of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 1–24, 1991.

VISHNUKANTA, A. R. *Melia azedarach*: A phytopharmacological review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 2, p. 172–178, 2008.

WANDSCHEER, C. B. et al. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. **Toxicon**, v. 44, n. 8, p. 829–835, 2004.

WANG, S. et al. Gene expression profiling analysis reveals a crucial gene regulating metabolism in adventitious roots of neem (*Azadirachta indica*). **RSC Advances**, v. 6, n. 115, p. 114889–114898, 2016.

WEBSTER, L. R.; MCKENZIE, G. H.; MORIARTY, H. T. Organophosphate-based pesticides and genetic damage implicated in bladder cancer. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 133, n. 2, p. 112–117, 2002.

WINKALER, E. U. et al. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 145, n. 2, p. 236–244, 2007.

YAPO, L. M.; ATSE, C. B.; KOUASSI, P. Composition, abundance and diversity of aquatic insects in fishponds of southern Ivory Coast, West Africa. **Entomol. Faun.-Faun. Entomol**, v. 66, p. 123–133, 2013.

YASUDA, M. et al. Structures of momordicines I, II and III, the bitter principles in the leaves and vines of *Momordica charantia* L. **CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN**, v. 32, n. 5, p. 2044–2047, 1984.

YASUI, H.; KATO, A.; YAZAWA, M. ANTIFEEDANTS TO ARMYWORMS, *Spodoptera litura* AND *Pseudaletia separata*, FROM BITTER GOURD LEAVES, *Momordica charantia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 5, p. 803–813, 1998. 5.

YIN, H. et al. Occurrence, Distribution, and Exposure Risk of Organophosphate Esters in Street Dust from Chengdu, China. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, n. 4, p. 617–629, 2019.

ZANUNCIO, J. C. et al. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–8, 2016.

ZENG, J. et al. Chemical constituents from the leaves of *Melia azedarach*. **Natural Product Research**, v. 33, n. 19, p. 2860–2863, 2019.

ZHANG YAN PING et al. Global Distribution and Introduction Cultivation State of *Azadirachta indica*. **Forest Inventory and Planning**, v. 792, p. 33–42, 2002.

ZIA, A. et al. Effect of salinity gradients on species composition of Odonata naiads. **Arthropods**, v. 7, n. 1, p. 11–25, 2018.

ANEXO 1 - LISTA DE LESÕES ANÁLISADAS NAS BRÂNQUIAS DOS ALEVINOS DE TILÁPIA USANDO A METODOLOGIA DE BERNET

Padrão de reação	Unidade funcional	Alteração	fator de pontuação
do tecido			
Perturbações circulatórias		Hemorragia / hiperemia / aneurisma	w GC1 = 1
		Edema intercelular	w GC2 = 1
Epitélio			
Mudanças regressivas		Alterações arquitetônicas e estruturais	w GR1 = 1
		Alterações plasmáticas	w GR2 = 1
		Depósitos	w GR3 = 1
		Alterações nucleares	w GR4 = 2
		Atrofia	w GR5 = 2
		Necrose	w GR6 = 3
		Ruptura das células do pilar	
Tecido de suporte			
		Alterações arquitetônicas e estruturais	w GR7 = 1
		Alterações plasmáticas	w GR8 = 1
		Depósitos	w GR9 = 1
		Alterações nucleares	w GR10 = 2
		Atrofia	w GR11 = 2
		Necrose	w GR12 = 3
Epitélio			
Mudanças progressivas		Hipertrofia	w GP1 = 1
		Hiperplasia	w GP2 = 2
Tecido de suporte			
Inflamação		Hipertrofia	w GP3 = 1
		Hiperplasia	w GP3 = 2
		Exsudato	w GI1 = 1
		Ativação de FER	w GI2 = 1
		Infiltração	w GI3 = 2
Tumor		Tumor benigno	w GT1 = 2
		Tumor maligno	w GT2 = 3

ANEXO 2 - PARAMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA NOS CINCO TRATAMENTOS COM ALEVINOS DE TILÁPIA EXPOSTOS A CONCENTRAÇÕES DE MELÃO DE SÃO CAETANO DURANTE UM PERÍODO DE 30 DIAS.

Variáveis	Tratamentos
-----------	-------------

	Controle (0 mL/L)		7,87mL/L		8,76mL/L		11,35mL/L		12,33mL/L	
	Média	±SD	Média	±SD	Média	±SD	Média	±SD	Média	±SD
pH	7,39	0,37	7,38	0,72	7,16	0,82	7,26	0,43	7,35	0,50
Temperatura	23,3	3,4	22,4	3,0	23,4	3,1	23,9	4,6	22,5	3,0
OD (mg/L)	4,95	0,27	5,08	0,38	5,02	0,16	5,03	0,31	5,07	0,33
Amônia total (mg/L)	0,277	0,018	0,274	0,032	0,264	0,021	0,267	0,034	0,285	0,029
Nitrito (mg/L)	0,558	0,077	0,540	0,070	0,584	0,064	0,619	0,103	0,568	0,117

OD = Oxigênio dissolvido