



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
MESTRADO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

DALVANICE LEAL AGUIAR

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO TECNOLOGIA ALTERNATIVA
AOS INSETICIDAS SINTÉTICOS PARA O CONTROLE DO
Aedes aegypti (DIPTERA: CULICIDAE)**

**CAMPINA GRANDE
2011**

DALVANICE LEAL AGUIAR

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO TECNOLOGIA ALTERNATIVA
AOS INSETICIDAS SINTÉTICOS PARA O CONTROLE DO
Aedes aegypti (DIPTERA: CULICIDAE)**

*Dissertação apresentada ao Mestrado
em Ciências e tecnologia Ambiental da
Universidade Estadual da Paraíba -
UEPB, em cumprimento aos requisitos
parciais para obtenção do Título de
Mestre em Ciências e tecnologia
Ambiental.*

ORIENTADOR: DR. EDUARDO BARBOSA BESERRA

**CAMPINA GRANDE
2011**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

A282u

Aguiar, Dalvanice Leal.

Utilização de óleos essenciais como tecnologia alternativa aos inseticidas sintéticos para o controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [manuscrito] / Dalvanice Leal Aguiar. – 2011.

55 f. : il. color.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba, 2011.

“Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Bezerra, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.”

1. *Aedes aegypti*. 2. Óleos essenciais. 3. Controle Químico. 4. Inseticidas Sintéticos. I. Título.

21. ed. CDD 616.921

DALVANICE LEAL AGUIAR

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO TECNOLOGIA ALTERNATIVA
AOS INSETICIDAS SINTÉTICOS PARA O CONTROLE DO
Aedes aegypti (DIPTERA: CULICIDAE)**

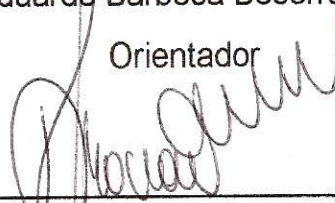
Aprovado em 27 de Julho de 2011

BANCA EXAMINADORA



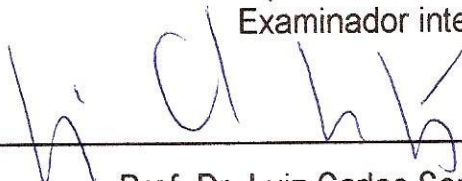
Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra – DB/UEPB

Orientador



Prof.ª Dr.ª Dilma Maria de Melo Brito Trovão

Examinador interno



Prof. Dr. Luiz Carlos Serramo Lopes

Examinador externo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marcos Roberto de Almeida Aguiar e Eunice Leal Aguiar, por todos os ensinamentos, força e incentivo. Pela presença em todos os momentos difíceis vividos nesses dois últimos anos. Agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de tê-los como pais e tudo que tenho e sou hoje é fruto do que fizeram e do que ainda fazem por mim. OFEREÇO, com amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu uma nova chance de viver, me curou, me deu força e coragem. Só Ele sabe o quanto foi difícil recomeçar e agora concluir mais esta etapa da minha vida. Sem a ajuda Dele, hoje eu não estaria aqui.

Aos meus pais, pelo amor e dedicação. Por estarem comigo em todos os momentos, me ajudando a superar todas as atribulações, todos os momentos difíceis, sempre com muita esperança e amor. Muito obrigada!

A minha irmã, Roberta Leal Aguiar pelo companheirismo e atenção.

Ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba pelo acolhimento e por ter me proporcionado esta formação profissional.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudo durante o curso.

Ao Professor Eduardo Barbosa Beserra, pela orientação deste trabalho de dissertação, colaboração e sugestões. Muito obrigada!

Aos examinadores da dissertação: Prof^a. Dilma Maria de Melo Brito Trovão e Prof^o Luiz Carlos Serrano Lopez, muito obrigada pelas considerações, correções e sugestões para melhoria do trabalho.

A todos os professores do CCT pelas informações e conhecimentos concedidos.

A todos os colegas da turma de 2009 pelos momentos de descontrações e de alegria proporcionados durante o curso.

Aos colegas do laboratório Renata e Lafayette, pela amizade e colaboração.

As minhas amigas Morgana, Fernanda e Socorro pelos momentos de descontração, por terem me ajudado e me acompanhado nessa jornada.

As minhas primas e amigas Caline e Cássia, por toda atenção, carinho e ajuda na realização deste trabalho.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização e conclusão de mais essa etapa da minha vida! Esta não é apenas mais uma vitória acadêmica, mas também a confirmação da vitória da minha VIDA!

A todos, meu muito obrigada!

AGUIAR, D. L. **Utilização de óleos essenciais como tecnologia alternativa aos inseticidas sintéticos para o controle do *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE).** Campina Grande, PB: UEPB, 2011. 55f. (Dissertação – Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental).

RESUMO

Aedes aegypti é o principal vetor dos vírus da dengue e febre amarela. O controle realizado através do uso contínuo de inseticidas sintéticos, fez com que o inseto desenvolvesse resistência a esses produtos, induzindo a procura por novos produtos com propriedades inseticidas, eficazes, acessíveis e ecologicamente viáveis para um controle alternativo, como, por exemplo, os óleos essenciais. Objetivou-se avaliar os efeitos dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* sobre os diferentes estágios do ciclo de vida do *A. aegypti*. Os experimentos foram realizados em sala climatizada a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas, aplicando-se concentrações que variaram de 0,0025 a 0,0085 ml/ 200ml dos óleos em larvas no 3º estágio tardio (L₃) e/ou 4º estágio jovem. Utilizou-se uma amostra da população de *A. aegypti* coletada na cidade de Campina Grande-PB. Avaliaram-se os efeitos larvicida, adulticida, ovicida e repelência para oviposição dos óleos essenciais em função de diferentes concentrações. Os dados de mortalidade foram submetidos à Análise de Probit para a determinação das (CL₅₀ e CL₉₀). Os testes ovicida e de repelência de oviposição dos óleos essenciais foram realizados utilizando as concentrações letais do teste larvicida (CL₅₀ e CL₉₀). A avaliação do efeito adulticida foi realizada utilizando as doses de 0,5 e 1 ml dos produtos vegetais. As médias referentes à preferência para oviposição em múltipla escolha foram comparadas pelo teste de Friedman ($P < 0,05$) e sem chance de escolha pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Os óleos vegetais de *F. vulgare* e *C. witerianus* demonstraram alto potencial para o controle das larvas com CL₅₀ = 0,0038ml e CL₉₀ = 0,0046ml e CL₅₀ = 0,0070 e CL₉₀ = 0,0125ml, respectivamente. No entanto o óleo essencial de *F. vulgare* requereu uma menor concentração do produto para causar 50 e 90% de mortalidade larval. Para o efeito adulticida a concentração de 1ml do óleo de *C. witerianus* apresentou o maior percentual de mortalidade. Todos os produtos, através dos valores IOA demonstraram ação repelente a oviposição de *A. aegypti*. Observou-se uma taxa de eclosão bastante reduzida, indicando uma atividade ovicida bastante significativa. Os óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus* demonstraram grande potencial no controle dos diferentes estágios do ciclo de vida desse vetor.

Palavras-chave: controle químico. óleos essenciais. *Aedes aegypti*.

AGUIAR, D. L. **The use of essential oils as an alternative technology to synthetic insecticides for controlling of *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE).** Campina Grande, PB: UEPB, 2011. 55f. (Dissertação – Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental).

ABSTRACT

Aedes aegypti is the main vector of dengue and yellow fever. The control, made with the use of synthetic insecticides caused the insect to develop resistance to these products, leading to demand for new products with insecticidal properties, effective, affordable and environmentally viable to an alternative control, with, for example, essential oils. The objective was to evaluate the effects of essential oils of *Foeniculum vulgare* and *Cymbopogon witerianus* on the different stages of the life cycle of *A. aegypti*. The experiments were performed in a room conditioned to $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and a photoperiod of 12 hours, applying concentrations ranging from 0.0025 to 0.0085 ml/200ml of oil in 3rd stage larvae in late (L3) and / or 4th young stage. A sample population of *Aedes aegypti* collected in Campina Grande-PB was used. We evaluated larvicide, adulticide, ovicidal effect and oviposition repellency of essential oils for different concentrations. Mortality data were submitted to Probit analysis to determine the (LC_{50} and LC_{90}). Ovicidal and oviposition repellency of essential oils tests were carried out using the lethal concentrations of the larvicide test (CL_{50} e CL_{90}). The evaluation of the adulticide effect was performed using doses of 0.5 and 1 ml of plant products. The average for the preference for oviposition in multiple choice questions were compared by Friedman test ($P < 0.05$) and no choice by the Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). Vegetable oils of *F. vulgare* and *C. witerianus* demonstrated high potential for larvae control with $\text{CL}_{50} = 0,0038\text{ml}$ e $\text{CL}_{90} = 0,0046\text{ml}$ e $\text{CL}_{50} = 0.0070$ e $\text{CL}_{90} = 0,0125\text{ml}$, respectively. However, the essential oil of *F.vulgare* required a lower concentration of the product to cause 50% and 90% of larval mortality. To the adulticide effect, the concentration of 1ml oil of *C. witerianus* showed the highest percentage of mortality. All the products showed repellent action on oviposition of *A. aegypti* through the IOA values. There was a very low hatching rate, indicating a very significant ovicidal activity. The essential oils of *F. vulgare* and *C. witerianus* demonstrated great potential in controlling the different stages of the life cycle of this vector.

Keywords: chemical control, essential oils, *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial (ml) de erva-doce na mortalidade de larvas do *Aedes aegypti*, em relação à média de mortalidade e concentrações (ml) utilizadas.....30
- Figura 2: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de citronela na mortalidade de larvas do *Aedes aegypti*, em relação à média de mortalidade e concentrações (ml) utilizadas.30
- Figura 3: Ilustração gráfica da atividade adulticida dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento haviam 30 adultos de *Aedes aegypti*.35
- Figura 4: Atividade ovicida dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* sobre *Aedes aegypti* (%).41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparação entre as médias da mortalidade larval obtidas de um nº total de 100 larvas do <i>Aedes aegypti</i> em cada uma das diferentes concentrações do óleo essencial de erva- doce e citronela.	31
Tabela 2 - Resposta da mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> em diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Foeniculum vulgare</i> e <i>Cymbopogon witerianus</i> após 24 horas de exposição.....	32
Tabela 3- Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos óleos essenciais com múltipla escolha através do teste de Friedman ($\alpha=0,05$), com respectivo qui-quadrado(x^2), grau de liberdade(g.l),médias individuais e IOA .	37
Tabela 4: Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos óleos essências sem chance de escolha através do teste de kruskal-Wallis $\alpha=0,05$, com respectivo qui-quadrado (x^2), grau de liberdade (g.l), médias individuais e IOA.	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral:	15
2.2 Objetivos específicos:.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 Ocorrência e distribuição da dengue	16
3.2 Importância do <i>Aedes aegypti</i> como vetor da dengue.....	17
3.3 Métodos de controle de insetos vetores de doenças: ênfase ao gênero <i>Aedes</i> ..	18
3.4 Potencial de utilização de produtos vegetais para o controle de insetos vetores: ênfase ao <i>Aedes aegypti</i>	20
3.3.1 Erva- Doce	22
3.3.2 Citronela	23
4 METODOLOGIA	25
4.1 Bioensaio de laboratório.....	25
4.2 Coletas e criação das populações de <i>Aedes aegypti</i>	25
4.3 Obtenção e preparo dos Óleos Essencias	26
4.4 Atividade larvicida dos Óleos Essencias	26
4.5 Calibração do TWEEN 20	26
4.6 Teste para verificação da atividade adulticida dos óleos essenciais sobre <i>Aedes aegypti</i>	27
4.7 Efeito de repelência dos óleos essenciais de <i>Foeniculum vulgare</i> e <i>Cymbopogon witerianus</i> aos adultos de <i>Aedes aegypti</i>	27

4.7.1 Teste de múltipla escolha.....	27
4.7.2 Teste sem chance de escolha.....	28
4.8 Efeito ovicida dos óleos essenciais sobre <i>Aedes aegypti</i>	28
4.9 Análise dos dados	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Atividade larvica dos Óleos Essencias	30
5.2 Calibração do TWEEN 20	34
5.3 Verificação da atividade adulticida dos óleos essenciais sobre <i>Aedes aegypti</i> ...	34
5.4 Efeito de repelência dos óleos essenciais de <i>Foeniculum vulgare</i> e <i>Cymbopogon witerianus</i> em fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> sobre substrato de oviposição	36
5.4.1 Atividade de repelência para oviposição de múltipla escolha.....	36
5.4.2 Atividade de repelência para oviposição sem chance de escolha.....	38
5.5 Efeito ovicida dos óleos essenciais sobre <i>Aedes aegypti</i>	40
6 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

Aedes aegypti (L.) é um mosquito de grande importância epidemiológica devido ao seu papel como transmissor dos vírus da dengue e da febre amarela (FORATTINI, 2002). O comportamento sinantrópico e hábito antropofílico deste vetor promovem sua dispersão em áreas urbanas por todo o mundo (ZWIEBEL; TAKKEN, 2004). Segundo Costa (2001), são conhecidos atualmente quatro sorotipos do vírus (DENV 1, 2, 3 e 4), transmitido apenas pela fêmea do mosquito no momento da hematofagia. Até o presente momento, não existe vacina pronta para uso contra os quatro sorotipos do vírus da dengue, embora pesquisas estejam em andamento (WHITEHEAD et al., 2003; ROTHMAN, 2004). Dessa maneira, a única forma de combater a dengue continua sendo o controle do vetor.

Estima-se que atualmente mais de 2,5 bilhões de pessoas estão em risco de dengue e a Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que pode haver 50 milhões de infecções de dengue cada ano no mundo (WHO, 2009). Constituindo assim, um dos problemas mais graves de saúde pública, já que o seu vetor é um inseto doméstico, antropofílico, com atividade hematofágica diurna e que se adapta facilmente a criadouros artificiais, dificultando o seu controle (TAUIL, 2002).

As estratégias de controle do *A. aegypti* estão baseadas na utilização de produtos químicos e biológicos, integrados a programas de manejo ambiental. No Brasil, utilizam-se principalmente inseticidas químicos, onde se destacam os organofosforados, piretróides e mais recentemente os reguladores de crescimento, denominados de juvenóides (LUNA et al., 2004; MARTINS; SILVA, 2004). No entanto, o uso contínuo destes compostos apresenta desvantagens, pois além de contaminar o meio ambiente, pode ocasionar o desenvolvimento de resistência do mosquito ao inseticida, o que é desfavorável por inviabilizar o seu controle (ARRUDA et al., 2003; LIMA et al., 2006), favorecendo o aumento das populações de mosquitos e, conseqüentemente, o aumento dos casos da dengue (CAMPOS; ANDRADE, 2001). A resistência do *A. aegypti* ao temefós vem sendo relatada em diversas localidades brasileiras, a exemplo de municípios do estado do Ceará (LIMA et al., 2006) e da Paraíba (BESERRA et al., 2007), em Campinas (CAMPOS; ANDRADE, 2001) e em Curitiba (LUNA et al., 2004).

Em vista das dificuldades operacionais e econômicas geradas pela crescente resistência aos inseticidas sintéticos, os métodos alternativos ganharam novo

impulso e passaram a merecer maior atenção (WHO, 1977). Nos últimos anos, o uso de compostos provenientes de extratos naturais e de óleos essenciais de vegetais, tornou-se alvo de investigações (TRUMBLE, 2002). Muitos produtos à base de plantas apresentam um efeito inseticida comprovado e compostos ativos, que agem sinergicamente, possuindo características que poderiam ser empregadas como alternativas dirigidas para controle e monitoramento das populações de mosquitos (ISMAN, 2006; NAVARRO et al., 2009), somado ao fato de que são obtidos de recursos renováveis, rapidamente degradáveis, com baixo potencial de resistência, fácil acesso e baixo custo de produção (ROEL, 2001). Sendo o Brasil um país com uma flora rica e diversa, este tipo de estudo vem se desenvolvendo largamente.

Muitas pesquisas vem detectando a atividade dos óleos essenciais como repelentes, atraentes e até mesmo tóxicos a insetos e microorganismos (KATHRINA; ANTÔNIO, 2004). Os óleos essenciais são formados por metabólitos secundários de plantas, podem ser encontrados em estruturas especializadas, como os pêlos glandulares, células parenquimáticas, estocados também nas flores, folhas, dentre outros (BAKKALI et al., 2008; SPITZER, 2004).

Trabalhos recentes têm demonstrado a eficácia dos óleos essenciais sobre o *A. aegypti*, dentre todos que desempenham esse papel, estão os óleos essenciais provenientes da erva-doce e da citronela.

A erva-doce (*Foeniculum vulgare*), pertencente à família Apiacea, é uma planta aromática rica em óleo essencial (SANTANA, 1994), classificada como uma planta com atividade inseticida eficaz (KIM et al., 2002; LEE, 2004). Autores como, Kim (2000) e Pitasawa et al. (2007), avaliaram positivamente a ação repelente e larvicida do óleo essencial de *F. vulgare* sobre larvas e adultos do *A. aegypti*, assim como Sousa (2009), para *Anopheles atroparvus*.

A citronela (*Cymbopogon witerianus* Jowit,) pertence à família Poaceae (CORAZZA, 2002). Na medicina popular, suas folhas são utilizadas contra febre amarela e como repelente contra mosquitos, inclusive o *A. aegypti* (TAWATSIN, 2001). Trabalhos realizados por Olivo et al. (2008), comprovaram a ação inseticida do óleo essencial de citronela. Assim como, Mendonça et al. (2005) e Furtado et al. (2005), que também obtiveram resultados satisfatórios em relação as propriedades larvicidas e adulticidas deste vegetal.

Com base na importância relatada em trabalhos sobre o controle natural do mosquito e também com a perspectiva de incorporar tecnologia alternativa para o

controle do *A. aegypti*, dentro de um manejo racional do meio ambiente, se faz necessários estudos sobre os componentes biológicos com potencial inseticida, afim de contribuir para a diminuição dos casos de dengue nos países que apresentam atualmente, a doença como a maior preocupação relacionada à saúde pública.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Avaliar o efeito inseticida dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* (ervadoce) e *Cymbopogon witerianus* (citronela) sobre os diferentes estágios de desenvolvimento do *Aedes aegypti*.

2.2 Objetivos específicos:

- I. Determinar a concentração de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* que causam maior mortalidade em larvas de *A. aegypti*;
- II. Avaliar o efeito adulticida dos óleos essenciais sobre os mosquitos de *A. aegypti*.
- III. Analisar a atividade de repelência dos óleos essenciais para oviposição de fêmeas de *A. aegypti*.
- IV. Verificar a atividade ovicida dos óleos essenciais sobre este vetor.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ocorrência e distribuição da dengue

A dengue é uma infecção reemergente que vem preocupando as autoridades sanitárias de todo o mundo em virtude de sua circulação nos cinco continentes e o grande potencial para assumir formas graves e letais (SIMAS et al., 2004). Caracteriza-se como uma doença febril aguda, cujo agente etiológico é um vírus do gênero Flavivírus (TAUIL, 2001), sendo conhecidos quatro sorotipos deste vírus: VDEN1, VDEN2, VDEN3 e VDEN4 (MARCONDES, 2001).

A circulação e perpetuação do vírus da dengue na natureza, na estrutura epidemiológica atual, se devem ao hospedeiro humano infectado, e ao vetor da enfermidade, os mosquitos do gênero *Aedes*, especialmente nos grandes centros urbanos onde a doença se mantém de forma endemo-epidêmica (PONTES; RUFFINO-NETO, 1994).

Na atualidade, o objeto da maior campanha de saúde pública do Brasil, se concentra no controle do *Aedes aegypti*, único vetor reconhecido como transmissor do vírus da dengue em nosso meio (CÂMARA et al., 2007). Algumas evidências apontam para a ocorrência de epidemias de dengue no Brasil desde 1846, nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro. Porém, a primeira epidemia de dengue com confirmação laboratorial aconteceu em 1982, na cidade de Boa Vista, capital do estado de Roraima, estimando a ocorrência de 11 mil casos. O vírus da dengue estava circulando por diversos países e sua introdução no Brasil se deu possivelmente por via terrestre, através da fronteira com a Venezuela (TEIXEIRA et al., 1999).

Atualmente, o Brasil é o país das Américas mais afetado em número de casos de dengue, sendo responsável por, aproximadamente, 70% dos casos notificados. A circulação concomitante dos três sorotipos na maioria dos estados tem aumentado o número de casos graves e a taxa de hospitalização (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2005; OPS, 2007).

De acordo com Teixeira et al. (1999), a região Nordeste apresenta o maior risco da doença desde 1996, e durante o ano de 1999 atingiu cerca de 60% da população da área, representando uma média acima da nacional. Sendo o estado da Paraíba o que apresentou um índice mais elevado de casos, com 1807,4 por 100

mil habitantes. Em uma pesquisa realizada por Souza et al. (2007), observou-se um estado endêmico no padrão epidemiológico no estado da Paraíba, caracterizado por meses de alta e baixa endemicidade, especialmente no município de João Pessoa.

Apesar dos esforços para controlar a doença, as condições atuais do meio ambiente e saneamento básico no Brasil, vem contribuindo para o insucesso da campanha. Entre os anos de 1995 a 2010, o número de municípios infectados pelo *A. aegypti* praticamente dobrou, passando de 1753 para 2007 casos (DENGUE, 2010).

A Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde registrou um total de 254.734 casos notificados de dengue no país entre o período de janeiro a março de 2011. Sendo o Sudeste a região que apresentou maior número de casos notificados (81.179; 32%), seguida da região Norte (76.671; 30%), Nordeste (47.404; 19%), Sul (28.445; 11%) e Centro-Oeste (21.035; 8%) (INFORME, 2011). O período que corresponde aos meses de Janeiro a Abril de 2011, foram registrados 1.976 casos de dengue clássica, 27 casos de febre hemorrágica da dengue e 3.759 casos em processo de investigação para confirmação ou descarte (BOLETIM EPIDEMIOLOGICO DA DENGUE, 2011).

3.2 Caracterização do *Aedes aegypti* como vetor da dengue

O *Aedes aegypti* é um inseto amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre, principalmente entre os paralelos 45° de latitude norte e 35° de latitude sul, não se adaptando bem a grandes altitudes (PONTES; RUFFINO-NETO, 1994). No entanto têm-se registros de sua presença a 2.132 e 2.200 metros acima do nível do mar, na Índia e na Colômbia (FUNASA, 2001).

Possui hábito alimentar diurno, com maior pico entre as 16h e 18h (SILVA et al., 2004). Geralmente, as fêmeas deste mosquito adquirem o vírus no momento da hematofagia em uma pessoa infectada, podendo haver a incubação de 8 a 10 dias, ficando assim potencialmente hábil para infectar os seres humanos (OMS, 2011).

É um mosquito doméstico, antropofílico e utiliza-se preferencialmente de depósitos artificiais de água limpa para colocar os seus ovos (TAUIL, 2002).

O desenvolvimento do *A. aegypti* ocorre por metamorfose completa, passando por quatro estágios biológicos distintos: ovo, larva que apresentam quatro instares, pupa e adulto. As fases de ovo, larva e pupa desenvolvem-se na água

(MARCONDES, 2001). Enquanto a fase adulta está intimamente associada às atividades do homem por suas características de alimentação e reprodução (ALDAMA, 2001). O crescimento e o desenvolvimento das larvas variam com a temperatura da água, disponibilidade de alimento e densidade populacional no criadouro (BESERRA et al., 2006).

Provavelmente é originário da África, região da Etiópia, o *A. aegypti* foi introduzido na América no período colonial, por meio de embarcações oriundas daquele continente (PONTES; RUFFINO-NETO, 1994). Os primeiros registros de sua identificação em terras brasileiras foram em 1898, por Lutz, e em 1899, por Ribas (FRANCO, 1969). Hoje se tem registro de sua presença nos 26 estados da federação e no Distrito Federal (SVS, 2007).

3.3 Métodos de controle de insetos vetores de doenças: ênfase ao gênero *Aedes*

Como ainda não foram obtidas vacinas contra os quatro sorotipos da dengue necessários para imunizar a população, o controle da proliferação do vetor é a única maneira de prevenir a ocorrência dessa arbovirose (MARCONDES, 2001). O alto grau de adaptação do *A. aegypti* ao ambiente urbano dificulta o controle da sua densidade populacional, pois qualquer recipiente que acumule água torna-se um potencial criadouro (KUBOTA et al., 2003).

Para o controle do *A. aegypti*, são realizadas intervenções estritamente direcionadas, mediante execução de três linhas de ações, quais sejam: saneamento do meio ambiente, atividades de educação que visam à redução dos criadouros potenciais deste mosquito, e o seu combate direto por meio de agentes químicos, físicos e biológicos (TEIXEIRA et al., 2002). O controle físico consiste em eliminar/reduzir o número de criadouros (MARCONDES, 2001). O controle biológico baseia-se no uso de organismos vivos capazes de competir, eliminar ou parasitar as larvas ou formas aladas do vetor (TEIXEIRA et al., 1999).

Ao longo dos séculos tem sido utilizada a aplicação de substâncias químicas para o controle de mosquitos. A elas dá-se o nome genérico de inseticidas (pesticidas) e, no caso de se pretender atingir as formas imaturas, larvicidas para larvas e ovicida para ovos (FORATTINI, 2002). As estratégias de controle do *A.*

aegypti no Brasil utilizam principalmente inseticidas químicos, onde se destacam os organofosforados e piretróides (LUNA et al. 2004).

Atualmente, o combate ao principal vetor da dengue encontra um problema de crescente resistência dos insetos aos larvicidas e adulticidas de uso habitual nas atividades de controle (TAIUL, 2002). Dessa forma, os reguladores de crescimento estão sendo cada vez mais utilizados como alternativa de controle. Trata-se de moléculas sintéticas, análogas aos hormônios naturais dos insetos, mais seguros para a manipulação e com uma lenta evolução de resistência comparada aos inseticidas convencionais (ADAMES, 1993). Eles apresentam uma ação mais específica do que os outros inseticidas, atuando seletivamente ao interromper o desenvolvimento e crescimento, ao invés de promover a intoxicação direta (SILVA; MENDES, 2002).

O regulador de crescimento pyriproxyfen mostrou-se eficiente na inibição da emergência de adultos de *A. aegypti* (RESENDE; GAMA, 2006). Martins e Silva (2004), analisaram a atividade inibidora de Diflubenzuron na ecdise das larvas de *A. aegypti* e constataram que este regulador de crescimento de insetos apresentou uma eficiente atividade em todos os estágios larvais. Devido à atividade eficaz dos inseticidas reguladores do crescimento e a constatação de populações resistentes aos organofosforados e piretróides, o estado da Paraíba, passou a substituir o Temefós por Diflubenzuron no combate ao mosquito transmissor da dengue (PARAIBA, 2009).

O surgimento de insetos resistentes relaciona-se ao fato de que os inseticidas foram uma das medidas mais utilizadas contra os vetores por décadas. O que levou as populações de mosquitos a uma intensa pressão de seleção, gerando indivíduos capazes de tolerar doses que normalmente causariam mortalidade a indivíduos susceptíveis (LIMA et al., 2003). Essas alterações da susceptibilidade do *A. aegypti* aos inseticidas químicos foram relatadas por Beserra et al. (2007), onde foi avaliada a resistência do *A. aegypti* ao larvicida temefós em populações das cidades de Boqueirão, Brejo dos Santos, Campina Grande, Itaporanga e Remígio, no estado da Paraíba. As populações analisadas demonstraram resistência ao inseticida, embora com discreto grau de variação dessa resistência entre as localidades.

Inúmeras são as dificuldades que se têm quando se trata do controle do *A. aegypti*, por isso deve-se ressaltar a importância de um permanente monitoramento da resistência desses insetos, bem como o incentivo a pesquisas que visam

encontrar novos produtos com propriedades inseticidas, eficazes, acessíveis e ecologicamente viáveis.

3.4 Potencial de utilização de produtos vegetais para o controle de insetos vetores: ênfase ao *Aedes aegypti*

O uso de plantas com propriedades inseticidas é uma prática muito antiga (ROEL et al., 2000). No entanto, com o surgimento dos inseticidas organossintéticos que se mostravam mais eficientes e baratos, os compostos de origem vegetal praticamente deixaram de ser utilizados (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000). Sabe-se que as plantas, como organismos que co-evoluíram com insetos e outros microrganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e estas por sua vez, são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico (SIMAS et al. 2004).

De acordo com Ferreira et al. (2001), entre os primeiros inseticidas botânicos mais utilizados até 1940, destacou-se o alcalóide nicotina, produto extraído das folhas de *Nicotiana tabacum* L. e *Nicotiana rústica* (Solanaceae), utilizados em associação com a nomicotina e anabasina. Consolli et al. (1988), testou a influência de 34 extratos derivados de vegetais na sobrevivência de larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz), constatando que 26,5% dos extratos influenciaram diretamente no ciclo biológico do inseto.

Roel (2001) ressalta vantagens da utilização de inseticidas botânicos quando comparadas ao emprego de produtos sintéticos, visto que são obtidos de recursos renováveis, rapidamente degradáveis e apresentam várias substâncias que atuam simultaneamente, fazendo com que o desenvolvimento de resistência dos insetos a essas substâncias ocorra de forma muito lenta. Além disso, não apresentam ação residual nos alimentos e, ainda, sua obtenção é de fácil acesso, o que representa um menor custo de produção para a população. No entanto, para que sejam comercialmente viáveis, além de apresentar uma eficaz atividade, os produtos naturais precisam apresentar seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade ambiental e em mamíferos, além da biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade (FERREIRA et al., 2001).

O Brasil é um país de grande riqueza botânica, com uma diversidade estimada entre 350 e 550 mil espécies, possuindo assim uma fonte potencial de compostos

biologicamente ativos provenientes de plantas (NAKATANI et al., 2004; SANDES; BLASI, 2000).

Muitas plantas apresentam-se como importantes fornecedoras de metabólitos secundários com atividade inseticida, com baixo peso molecular, muitas vezes encontradas em pequenas quantidades, produzidas pelos vegetais como forma de proteção aos microrganismos e insetos herbívoros (BARRETO, 2005; RAVEN, 2001). Os óleos essenciais das plantas são misturas complexas de constituintes voláteis que conferem aromas e sabores característicos. De acordo com Cavalcanti et al. (2004), apresentam-se como uma fonte que pode atuar diretamente no controle do *A. aegypti*.

Os óleos essenciais podem acarretar efeitos sobre os insetos, como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, distúrbios no desenvolvimento ocasionado por alterações no sistema hormonal, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases dos insetos (ROEL, 2001). Na maioria das vezes, são obtidos por arraste a vapor produzido pelo processo de ebulição da água contendo o material botânico intacto ou grosseiramente pulverizado. O material volátil é arrastado pelo vapor d'água e posteriormente separado por decantação (SIMÕES et al., 1999).

Os óleos essenciais obtidos de plantas têm sido considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas (KELSEY, 1984). Segundo Ferreira et al. (2001), os óleos essenciais apresentam em sua constituição uma mistura de aproximadamente 4 a 50 componentes voláteis, destacando-se os monoterpenos, sesquiterpenos ou fenilpropanóides como as principais classes químicas envolvidas. Na maioria das vezes são armazenados em glândulas específicas em diversos órgãos dos vegetais, sendo os grandes responsáveis pelo odor nas plantas aromáticas. De acordo com Robbers et al. (1996), plantas da mesma espécie, cultivadas em diferentes partes do mundo, apresentam óleos essenciais via de regra com a mesma composição qualitativa, porém diferindo nas proporções dos seus constituintes, o que certamente influencia de forma direta sobre suas propriedades.

Na literatura há registros de diversos óleos de origem vegetal que apresentam atividade inseticida sobre o *A. aegypti*, como por exemplo, os óleos essenciais de *Ageratum conyzoides* L. (mentrasto), *Cymbopogon citratus* Stapf (capim-limão), *Lippia sidoides* Chamisso (alecrim pimenta), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca), *O. basilicum purpurascens* Benth (manjerição roxo), *O. tenuiflorum* L. (manjerição

pequeno), *Cymbopogon winterianus* Jowitt (citronela), *Tagetes minuta* L. (cravo-de-defunto), *Vanillosmopsis arborea* Baker (candeeiro) e *Citrus limon* L. (limão) (FURTADO et al., 2005). Destaca-se ainda os óleos de *Anacardium humile* (cajuí) (PORTO et al., 2008), *Lippia sidoides* (alecrim pimenta), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Hyptis martiusii* (cidreira-do-mato) (COSTA, et al., 2005).

3.3.1 Erva- Doce

Foeniculum vulgare Mill (erva-doce), também conhecida como funcho, anis-doce, maratou ou finoquão, é uma espécie pertencente à família Apiacea, originária do Mediterrâneo, Norte da África, Oeste da Ásia e Sul da Europa, sendo também encontrada vegetando na região do Cáucaso e Crimeia. Foi conhecida pelos romanos, gregos e egípcios, e no Brasil foi introduzida pelos colonos no século XVI (SOUZA et al., 2005; SOUZA, 2008).

Desenvolve-se bem em diversos climas, sendo extremamente tolerante à seca, geadas, chuvas e ventos fortes (TESKE; TRENTINI, 1995). No Brasil, plantas de erva-doce são encontradas em terrenos baldios, em beira de estradas e vias férreas, cultivado em jardins e hortas como planta alimentícia, forrageira, ornamental e medicinal (CASTRO, 1995). Na Paraíba a erva-doce é encontrada na microrregião do Agreste da Borborema. Parte significativa dos pequenos produtores da erva-doce está localizada nos municípios de Remígio, Esperança, Areia, Montadas e Pocinhos (SANTANA, 1994). O óleo essencial dessa planta apresenta como constituinte majoritário o anetol, porém encontra-se também, em parcelas menores a fechona, miristicina e estragol (LUCCA, 2009).

O potencial inseticida de óleos essenciais de *F. vulgare* foi constatado para *Anopheles atroparvus*, vetor da malária, causando mortalidade satisfatória em um período de 24 horas (SOUZA, 2009). Para *A. aegypti*, foi observado efeito de repelência e atividade larvicida (KIM 2000; GARGA et al. 2009).

Segundo Kim (2002), o extrato dos frutos da erva-doce apresentou-se com um grande potencial de atividade repelente, considerado pelos autores como um fato importante e satisfatório, frente aos benefícios que a sua comercialização pode oferecer. Pitasawa et al. (2007), avaliaram o efeito larvicida de *F. vulgare* contra *A. aegypti*, e verificaram que após 24 horas de exposição, a uma concentração de 56,3 ppm, a mortalidade larval foi de 88,33%. Já para o *Anopheles dirus*, em uma

concentração de 38.8 ppm do óleo essencial, houve uma mortalidade de 93,33%. O componente químico encontrado em alto teor no óleo essencial foi o anetol (85,63%), corroborando assim com diversos trabalhos que apontam esse constituinte químico como sendo o mais abundante e provavelmente o responsável majoritário pela propriedade inseticida deste óleo essencial.

3.3.2 Citronela

Cymbopogon witerianus Jowitt, é uma planta do sudeste asiático, pertencente à família Poaceae (CORAZZA, 2002). Conhecida popularmente como citronela trata-se de uma planta de ciclo perene, que possui uma grande resistência, podendo crescer em solos com características variadas, todavia prefere os que possuem boa drenagem e riqueza de nutrientes (TANU; ADHOLEYA, 2004). É uma espécie largamente cultivada da Ásia, porém mostrou-se bastante adaptada ao clima tropical do Brasil, sendo utilizada na medicina popular como repelente contra o *A. aegypti* (TAWATSIN, 2001). Suas folhas apresentam entre 0,6 a 1,0% de óleo essencial, ricos em geraniol e citronelal (MAIA et al., 1998). Estas substâncias são muito utilizadas pelas indústrias de cosméticos, perfumarias e medicamentos, além de serem utilizados na produção de velas e incensos com efeitos repelentes a algumas espécies de mosquitos do gênero *Aedes*, *Coquillettidia pertubans* e *Anopheles quadrimaculatus* (ROCHA et al, 2000; AGNOLIN, 2009). Nas microrregiões do Brejo e Curimataú paraibano, a temperatura amena (entre 23 e 30°C) e o solo com fertilidade média e alta favorecem o desenvolvimento dessa cultura. A produtividade do seu óleo essencial fica entre 80-100 l/ha (CASTRO, 2003). Quanto à composição química do óleo essencial, uma análise realizada por Scherer et al. (2009), apresentou as seguintes porcentagens relativas dos constituintes de maior expressividade: citronelal (45%), geraniol (20,7%) e citronelol (14,49%).

Olivo et al. (2008), comprovaram a eficácia do óleo de citronela como inseticida natural. Assim como Labinas e Crocomo (2002), que avaliou o efeito inseticida e repelente sobre a *Spodoptera frugiperda*. Diversos trabalhos relatam o importante papel desse óleo essencial no controle de insetos, inclusive como fonte promissora no controle do *A. aegypti*. Mendonça et al. (2005), relataram que o óleo essencial de citronela mostrou elevada atividade contra larvas do mosquito *A. aegypti*.

Corroborando com essa idéia, Furtado et al. (2005), considerou potencial a atividade larvicida da *C. Winterianus* sobre larvas do *A. aegypti*.

Bueno e Andrade (2010), avaliou o possível efeito repelente de óleos essenciais de nove plantas, sobre fêmeas de *Aedes albopictus* constatando que os óleos provenientes de citronela resultaram em repelência expressiva, com índices médios de proteção acima de 98%.

4 METODOLOGIA

4.1 Bioensaio de laboratório

A pesquisa foi realizada no laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de insetos da Universidade Estadual da Paraíba em Campina Grande.

4.2 Coletas e criação das populações de *Aedes aegypti*

A população de *A. aegypti* foi coletada no bairro Monte Santo, localizado no município de Campina Grande, Paraíba. Durante a coleta foram instaladas 80 armadilhas ovitrampas, distribuídas em 2 quarteirões, sendo uma armadilha por residência. As armadilhas foram recolhidas três dias após a instalação e o material coletado levado ao laboratório para o estabelecimento das criações.

A implementação da criação da população de *A. aegypti* para estudos com óleos essenciais foi realizada a partir de ovos coletados em campo. Essa população foi mantida em sala climatizada a temperatura de $26^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas, segundo metodologia descrita em Beserra et al (2009) e Beserra et al (2010).

As palhetas de Eucatex contendo ovos do campo foram acondicionadas em bandejas plásticas de cor branca, medindo 45,0 cm de comprimento por 27,0 cm de largura e 7,5 cm de profundidade, com um terço de sua capacidade preenchida por água destilada. Quando da eclosão das larvas, as bandejas foram cobertas por uma tela de malha fina e ofertada 1,0 mg/larva de ração para peixe ornamental (Goldfish crescimento) como substrato de alimentação. Quando da pupação, estas foram sexadas e transferidas em copos de polietileno (50 ml) para as gaiolas de criação de adultos. Nessas gaiolas (medindo 40,0cm de altura x 40,0cm de largura x 20,0cm de fundo) construídas de armação de madeira e tecido tipo organza foram acondicionados os adultos na proporção de duas fêmeas para cada macho, totalizando 150 (cento e cinquenta) indivíduos por gaiola. Aos adultos foi ofertada uma solução glicosada de mel a 20% diariamente, no caso das fêmeas, permitiu-se o repasto sanguíneo em codornas durante trinta minutos, três vezes por semana. Após cada repasto colocava-se, em cada gaiola, um pote de plástico descartável com capacidade para 150ml, e um funil envolto interiormente por um papel filtro e água desclorada para servir como substrato de oviposição. As cartelas com ovos,

em papel filtro, foram colocadas em bacias úmidas com tampa durante dois dias para completa ovogênese. As posturas oriundas da criação foram catalogadas e armazenadas em recipientes de plásticos para os testes posteriores com óleos essenciais.

4.3 Obtenção e preparo dos Óleos Essenciais

Os óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* (erva-doce) e *Cymbopogon witerianus* (citronela) foram adquiridos no Laboratório de Entomologia da UFPB, Campus III, Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA), onde foram produzidos a partir de extrações por processo de destilação.

4.4 Atividade larvícida dos Óleos Essenciais

Os testes larvícida foram realizados de acordo com metodologia da Organização Mundial da Saúde, com algumas adaptações. A atividade biológica dos óleos essenciais foi verificada em laboratório em larvas nos estádios L₃ tardio e/ou L₄ inicial para a obtenção das CL₅₀ e CL₉₀. Para realização do teste larvícida foram utilizadas as concentrações de 0,00125%, 0,00175%; 0,0025%; 0,00325%; 0,0037% e 0,00425%, correspondendo respectivamente a 0,0025 ; 0,0035; 0,0050 ; 0,0065 ; 0,0075 e 0,0085ml do óleo de erva-doce e citronela para cada 200 ml de água destilada utilizada. Para conferir maior homogeneidade, as concentrações foram misturadas com o auxílio de um agitador magnético.

Utilizou-se como controle o emulsificante Tween 20 nas doses testadas para os produtos vegetais e a água destilada como testemunha. As larvas foram distribuídas em copos plásticos de polietileno com capacidade de 300 ml, contendo 200 ml de água destilada menos as concentrações dos produtos vegetais. Para cada concentração havia quatro réplicas contendo 25 larvas por repetição e a mortalidade foi avaliada após 24 horas de exposição das larvas aos os óleos essenciais, considerando como mortas as que não responderam a um toque com um bastão.

4.5 Calibração do TWEEN 20

Durante os bioensaios, realizou-se a calibração do TWEEN 20 em seis concentrações que correspondeu às dosagens utilizadas em cada tratamento. Neste

ensaio, utilizou-se do mesmo procedimento metodológico para o teste larvicida do tópico 4.4 sem, obviamente, os óleos essenciais. As seis concentrações foram de 0,00125%, 0,00175%; 0,0025%; 0,00325%; 0,0037% e 0,00425%, para confirmar que essas percentagens utilizadas nos bioensaios, de fato, não interferiam nos resultados de mortalidade das larvas.

4.6 Teste para verificação da atividade aduítica dos óleos essenciais sobre *Aedes aegypti*

Para avaliar o efeito aduítico, utilizou-se 0,5 ml e 1,0 ml das amostras dos óleos essenciais estudados, solubilizadas em 0,2 ml de acetona e aplicado em papel filtro. Essas soluções foram introduzidas em gaiolas de armação de madeira (30cm x 30cm) revestidas por um plástico transparente contendo 30 insetos adultos de *A. aegypti*, em duas repetições. Após 1 hora de exposição foram retirados os papéis filtros contendo as soluções, sendo que os insetos adultos do vetor foram retidos por um período de 24 horas e, posteriormente, realizada a leitura, verificando-se quantos mosquitos foram mortos. Como controle, fez-se uso de duas gaiolas contendo os insetos adultos, sendo uma sem amostra e outra apenas com a concentração referente ao solvente.

4.7 Efeito de repelência dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* aos adultos de *Aedes aegypti*

O efeito de repelência dos extratos de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* foi avaliado utilizando-se as doses letais (CL₅₀ e CL₉₀) obtidas a partir do teste larvicida. O teste de preferência para a oviposição de *A. aegypti*, baseou-se em duas situações:

4.7.1 Teste de múltipla escolha

Neste teste a preferência para oviposição foi avaliada considerando um delineamento experimental em blocos ao acaso, com três tratamentos constituídos pelas CL₅₀ e CL₉₀ e água destilada como testemunha, em seis repetições. Cada repetição foi constituída por uma gaiola de armação de madeira telada (40,0 cm de altura x 40,0 cm de largura x 30,0 cm de fundo) contendo dez casais de *A. aegypti*.

Aos casais foi ofertada uma solução de mel a 20% e permitido às fêmeas o repasto sanguíneo em codornas por um período de 20 minutos por três dias intercalados. Após o terceiro repasto sanguíneo foram distribuídas no interior das gaiolas, as três soluções, contidas no interior de copos descartáveis de 200 ml. Em cada copo foi colocado um funil plástico revestido por um papel filtro para servir de substrato de oviposição. As avaliações foram diárias, durante um período de 72 horas, sendo, cada dia, retirados os papéis e contabilizados o número de ovos com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

4.7.2 Teste sem chance de escolha

Neste teste foi avaliada a preferência para oviposição seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, cada constituído de uma gaiola de madeira telada (20 cm²), contendo dez casais de *A. aegypti* e apenas um substrato para oviposição com um tipo de solução. Foram utilizados as CL₅₀ e CL₉₀ obtidas pelos óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus*. As avaliações foram diárias, seguindo os mesmos procedimentos do teste de múltipla escolha.

4.8 Efeito ovicida dos óleos essenciais sobre *Aedes aegypti*

O efeito ovicida dos óleos essenciais sobre o *A. aegypti* foi avaliado a partir das CL₅₀ e CL₉₀, obtida no teste com larvas desse vetor. Para cada solução, discos de papel filtro contendo 30 ovos foram imersos por 20 segundos e, posteriormente, colocadas para secar por 10 minutos, em seguida foram introduzidos em placas de Petri (15,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de profundidade), contendo água destilada suficiente para encobrir os ovos. Esse tratamento foi composto de 5 repetições. Após 24 horas de exposição dos ovos aos produtos foram realizadas, diariamente, durante 10 dias a contagens de larvas eclodidas, considerando-se como inviáveis os ovos que após 10 dias não apresentaram eclosão de larvas. Utilizou-se como controle os maiores da CL₅₀ e CL₉₀ referentes ao emulsificante TWEEN 20, em cinco repetições, e a água como testemunha.

4.9 Análise dos dados

Dados de mortalidade de larvas da população analisada foram submetidos á análise de Probit através do programa POLO-PC, para a determinação da concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) para a população do *A. aegypti*. A avaliação da atratividade ou repelência das soluções para as fêmeas de *A. aegypti* e as médias referentes à preferência para oviposição em múltipla escolha foram comparadas pelo teste de Friedman (P< 0,05) e teste sem chance de escolha pelo teste de Kruskal-Wallis (P< 0,05), determinando-se, ainda, o índice de oviposição ativa (IOA) através da fórmula de Kramer e Mulla (1979):

$$\text{IOA} = \frac{\text{Nt} - \text{Nc}}{\text{Nt} + \text{Nc}}$$

$$\text{Nt} + \text{Nc}$$

Em que **Nt** = número de ovos na solução teste e **Nc**= número de ovos na solução controle. Segundo esses autores o IOA ≥ 0.3 indica atratividade, enquanto que IOA ≤ 0,3 indica que a solução é repelente para a oviposição.

A análise dos dados e geração de gráficos foi feita através dos programas SPSS versão 17.0 for Windows e Excel 2007.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade larvívora dos Óleos Essenciais

Observou-se uma relação linear entre as concentrações de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* utilizadas e a mortalidade larval, havendo uma maior mortalidade com o aumento das concentrações deste óleo essencial. Fato este, comprovado através do p-valor obtido de 0,000 para ambos os óleos essenciais (Figura 1 e 2). Para *F. vulgare* as maiores taxas de mortalidade larval foram observadas a 0,005ml, não diferindo estatisticamente das concentrações entre 0,0065 e 0,0085 ml deste óleo essencial. Já para o óleo de citronela as maiores mortalidade foram constatadas a partir de 0,0075 ml. Observa-se assim, que o óleo de erva-doce, além de causar uma maior mortalidade larval, esta pode ser observada utilizando-se menores quantidades do produto do que quando comparado ao óleo essencial de citronela (Tabela 1). A mortalidade observada a partir do uso de uma baixa dosagem (0,005ml), demonstra o potencial de utilização desse produto para o controle do *A. aegypti*.

Figura 1: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial (ml) de erva-doce na mortalidade de larvas do *Aedes aegypti*, em relação à média de mortalidade e concentrações(ml) utilizadas.

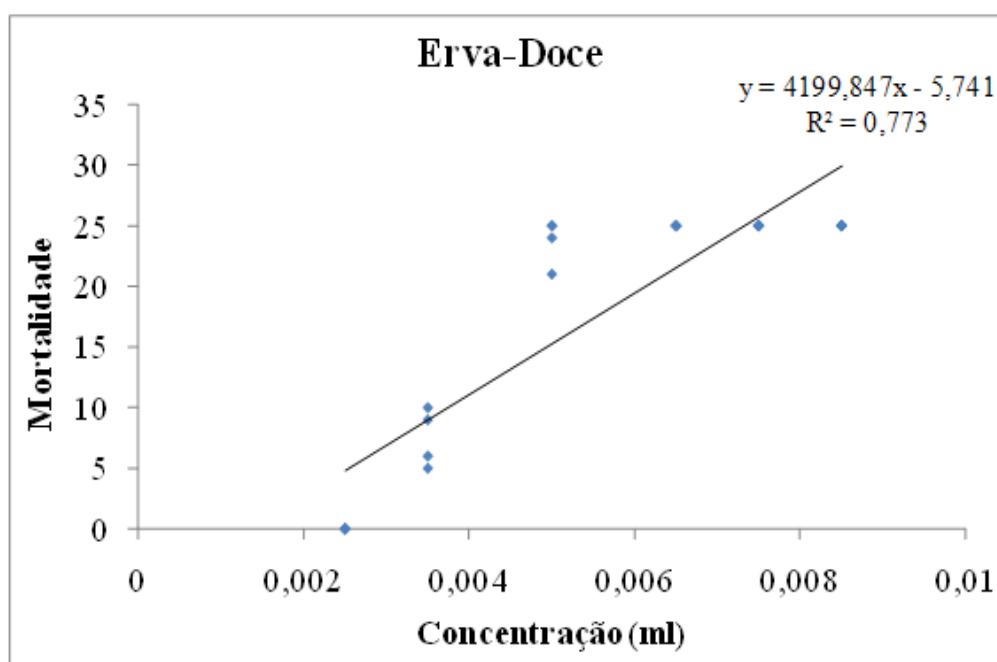


Figura 2: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de citronela na mortalidade de larvas do *Aedes aegypti*, em relação à média de mortalidade e concentrações (ml) utilizadas.

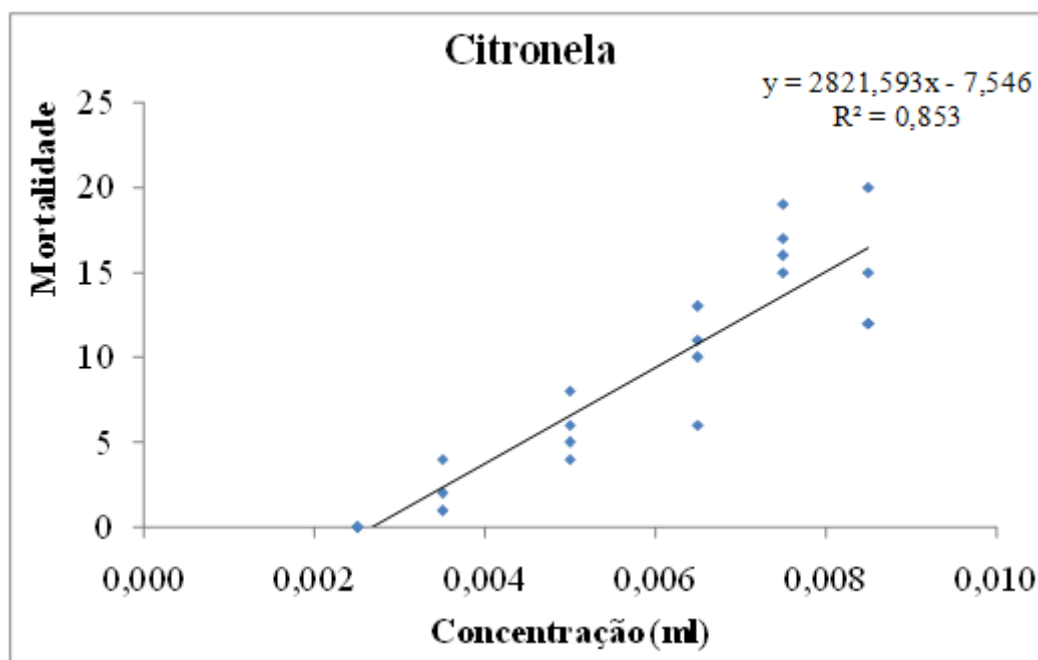


Tabela 1- Comparação entre as médias da mortalidade larval obtidas de um nº total de 100 larvas do *Aedes aegypti* em cada uma das diferentes concentrações do óleo essencial de erva-doce e citronela.

	<i>F. vulgare</i>	<i>C. witerianus</i>
Concentração (ml)/ 200ml	Mortalidade (X ± EP) ¹	Mortalidade (X ± EP) ¹
0,0025	0,0	0,0
0,0035	7,5± 1,19B	2,00± 0,70 AB
0,0050	23,75± 0,94C	5,75± 0,85 BC
0,0065	25,00± 0C	10,00± 1,47 CD
0,0075	25,00± 0C	14,75 ± 0,85 DE
0,0085	25,00± 0C	16,75± 1,88 E
C.V(%)	72,2	62,2

¹ Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

De acordo com Kathrina e Antônio (2004), os óleos essenciais presentes nas plantas podem causar diversos efeitos nos insetos, inclusive a toxicidade. Estes efeitos inseticidas estão intimamente ligados aos constituintes químicos majoritários

encontrados nos óleos essenciais. Segundo Lucca (2009), o óleo essencial da erva-doce apresenta como constituinte majoritário o anetol, e ainda em quantidades menores, mas expressivas, a fechona, miristicina e estragol. Sendo estes constituintes citados na literatura como produtos ativos e eficazes com potencial inseticida (KIM; AHN, 2001).

Entre os componentes químicos do óleo de *C. winterianus*, são encontrados em maiores quantidades o citronelal (45,8%) e geraniol (19,13%) (MATA et al., 2009). Esses componentes são referidos pela sua eficácia contra insetos e, segundo Furtado et al. (2005), são os responsáveis pela mortalidade larval do *A. aegypti*. Dessa forma, podemos sugerir que os componentes majoritários encontrados na composição do óleo essencial de citronela, influenciaram diretamente e de forma positiva na mortalidade verificada neste trabalho.

As CL₅₀ e CL₉₀ dos óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus* foram 0,0038 ml e 0,0070 ml, e de 0,0046 ml e 0,0125 ml, respectivamente. Verifica-se, portanto, que são necessárias menores concentrações do óleo de *F. vulgare* para causar 50% e 90% de mortalidade larval do *A. aegypti*, indicando-o como o mais eficiente para o controle do vetor, quando comparado ao óleo de *C. witerianus* (Tabela 2).

Tabela 2 - Resposta da mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* após 24 horas de exposição.

Óleo essencial	CL ₅₀ [*]	CL ₉₀ ^{**}	x ²	Slope±EP
<i>F. vulgare</i>	0.0038ml (0.0036- 0.0039)	0.0046ml (0.0044-0.0049)	14.00	14.61 ±1.42
<i>C. witerianus</i>	0.0070 ml (0.0065- 0.0075)	0.0125ml (0.0109-0.0153)	28.00	5.07±.45

^{*}CL50 (Concentração Letal 50%); ^{**}CL90 (Concentração Letal 90%); IC 95% (Intervalo de Confiança a 95% de probabilidade).

Observando-se os intervalos de confiança que não se sobrepõem em mais de 50%, e os coeficientes angulares estimados pelas linhas de regressão da análise de Probit, que diferem entre si, pode-se inferir que estes produtos apresentam do ponto

de vista qualitativo e quantitativo, componentes químicos potencialmente distintos com relação a sua propriedade larvicida sobre o vetor, o que pode explicar as menores concentrações do óleo de *F. vulgare* para causar 50% e 90% de mortalidade larval de *A. aegypti*.

O efeito larvicida de *F. vulgare*, também foi constatada para *Culex pipiens*, cuja CL_{50} foi de 0,0245 mg/ml (TRABOULSI et al., 2005), e para *Anopheles dirus* e *A. aegypti*, cuja CL_{50} foi de 0,03527 e 0,04932 mg/ml (PITASAWAT et al. 2007), concentrações estas, superiores a observada na presente pesquisa.

O óleo essencial de *F. vulgare* apresentou um efeito tóxico significativo contra larvas do quarto estágio inicial de *A. aegypti*, com um valor CL_{50} de 0,04123 mg/ml e CL_{90} de 0,06524 mg/ml (CHUNG et al., 2010). Sousa (2009), ao avaliar a atividade larvicida de óleo essencial de *F. vulgare* sobre *Anopheles atroparvus*, encontrou uma CL_{50} e CL_{90} de 0,050 mg/ml e 0,039 mg/ml, respectivamente, considerando essas concentrações promissoras para o controle do vetor. Associando ainda, a propriedade larvicida a presença do anetol na composição química deste produto. Já Conti et al (2010) obtiveram mortalidades de larva de *A. albopictus* variando entre 98,3% e 100%, quando aplicada dosagens de 0,0300 mg/ml.

A atividade larvicida de *C. witerianus* também foi comprovada na presente pesquisa, embora, a mortalidade causada tenha sido menor do que aquela observada para o óleo de erva-doce, mesmo em concentrações maiores. Provavelmente, isso se deva a maior propriedade de repelência deste óleo, e não de causar mortalidade ao inseto na fase larval.

Porém, segundo Medonça et al (2005), o óleo essencial da citronela apresenta elevada atividade larvicida contra *A. aegypti*, o que foi confirmado por Furtado et al. (2005), que estimaram para esse vetor uma CL_{50} de 4 mg/ ml e CL_{90} de 4,5 mg/ml. Verifica-se, assim, que a atividade larvicida está presente neste produto vegetal, porém para que essa seja efetiva contra o vetor, são necessárias concentrações maiores do que aquelas estimadas para o óleo essencial de erva-doce.

Xavier (2009) testou a toxicidade de alguns óleos essenciais e constatou que o produto proveniente da *C. witerianus* apresentou grande potencial larvicida em abelhas *Apis mellifera*. O óleo essencial de *C. witerianus* também se mostra eficaz no controle de fitopatógenos, como verificado por Mata et al. (2009), nas

concentrações de 1%, 1,5%, 2% e 2,5%, onde este interferiu na ocorrência da microbiota fúngica sobre as sementes do mandacaru.

A alta taxa de mortalidade larval em baixas concentrações dos óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus* em larvas do *A. aegypti*, mostram o quanto é eficaz o controle do vetor a partir destes produtos vegetais, somado ao fato de que são espécies de plantas de fácil adaptação aos mais diversos ambientes, facilitando o cultivo para uma posterior extração e aplicação destes óleos essenciais em larvas do vetor da dengue, potencializando o controle do mesmo ainda em sua forma imatura.

5.2 Calibração do TWEEN 20

Os óleos essenciais são insolúveis em água, sendo necessário o uso de substâncias que possam atuar na solubilização para fins de estudos laboratoriais e bioensaios. Contudo, há diversos trabalhos que fazem o uso do emulsificante TWEEN 20 para tornar polares substâncias apolares. Não há estudos detalhados a respeito dos seus efeitos nos seres humanos. O que se sabe, sob condições normais de uso, que sua toxicidade é muita baixa, não tendo conhecimento sobre seus efeitos tóxicos agudos (EMFAL, 2007).

Entretanto, por se tratar de um composto químico sintético, surgiu a preocupação se este solvente poderia interferir nos resultados de mortalidade de larvas e ovos no presente estudo. Desta forma, paralelamente a execução dos bioensaios, realizou-se a calibração do produto em concentrações e não se constatou mortalidade larval, mesmo quando expostas a dose máxima utilizada (0,0085 ml).

Este resultado torna os presentes dados mais confiáveis, já que o emulsificante TWEEN 20, nestas concentrações, não interferiu negativamente nos resultados dos bioensaios com larvas e ovos de *A. aegypti*.

5.3 Atividade adulticida dos óleos essenciais sobre *Aedes aegypti*

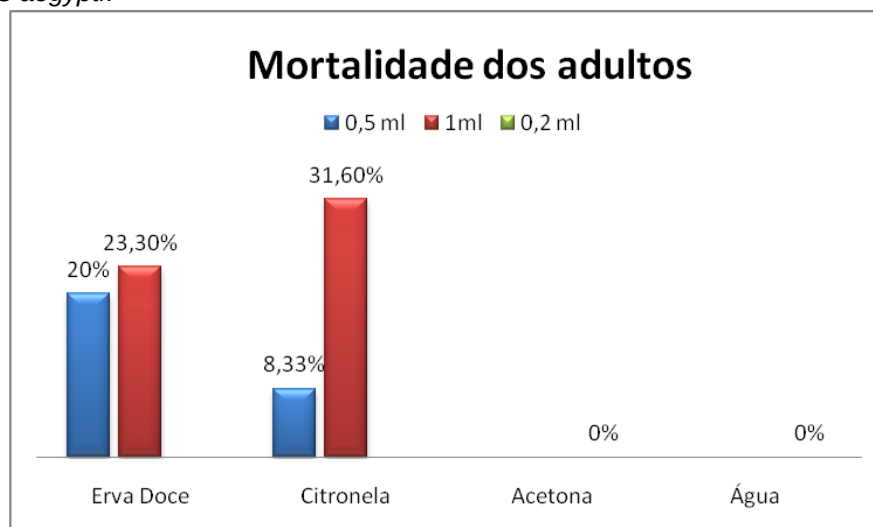
O potencial adulticida foi observado tanto nas doses de 0,5 ml quanto nas de 1 ml, para ambos os óleos essenciais. Porém, os insetos submetidos a dose de 1 ml

do óleo essencial de citronela, mostrou o maior percentual de mortalidade (31,6%), enquanto o óleo de erva-doce este percentual foi de 23,30%. As taxas de mortalidade constatadas para as doses de 0,5 ml foram de 8,33% e 20%, para erva-doce e citronela, respectivamente (Figura 3).

Verifica-se que ao contrário do que foi constatado para as larvas, esses produtos, principalmente na concentração de 0,5ml apresentou baixa eficiência contra os adultos. Indicando que para essa fase do desenvolvimento do inseto, sejam necessárias doses mais elevadas desse óleo, ou mesmo o aumento no tempo de exposição, a fim de se obter maior êxito na sua função como adulticida.

Assim, Zoubiri e Baaliouamer (2011) obtiveram uma mortalidade de 39% de *Sitophilus granarius*, a uma concentração de 0,5ml de óleo de erva-doce, em um período de 24 horas, e quando o tempo de exposição aumentou para 120 horas, a mortalidade foi de 50%, ressaltando a importância de uma maior compreensão sobre os efeitos desse produto para que se atinja uma maior eficiência de controle. Lima et al (2009) e Pereira e Moraes (2009), não observaram mortalidades de adultos de *A. aegypti*, quando foram aplicados óleos de *Spathellia excelsa* (Rutaceae) e *Annona coriacea*, respectivamente, mesmo em concentrações de até 0,0500 mg/ml. Assim para que se avalie as propriedades de produtos de origem vegetal sobre *A. aegypti*, deve-se observar o método de aplicação, a concentração, o tempo de exposição, e segundo Aguilera et al. (2003) e Luna et al. (2004), a fase de desenvolvimento do inseto que pode conferir diferentes graus de tolerância ao produto.

Figura 3: Ilustração gráfica da atividade adulticida dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 30 adultos de *Aedes aegypti*.



Fez-se uso da acetona como substância controle. Trata-se de um solvente orgânico, inflamável, com grande capacidade de se volatilizar, muito utilizado na indústria farmacêutica. Encontrou-se a necessidade de avaliar seus efeitos sobre os adultos de *A. aegypti*, devido sua característica de produzir efeitos tóxicos em longo prazo. Não se observou mortalidade de adultos na dose 0,2 ml de acetona, dose esta utilizada com os óleos essenciais, indicando nenhuma interferência desse solvente nos resultados acima descritos. A ausência de mortalidade também foi observada no controle sem solução.

São bastante comuns, pesquisas sobre a ação inseticida de alguns óleos essenciais de plantas, principalmente objetivando descobrir espécies com propriedades repelentes a insetos. Todavia, a ação inseticida por contato direto raramente é avaliada, merecendo assim, uma maior investigação, visto que se apresenta como mais uma alternativa viável ao controle de insetos.

5.4 Repelência dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* á fêmeas de *Aedes aegypti* sobre substrato de oviposição

Os estímulos inibitórios são fatores importantes na escolha dos locais de oviposição pelos insetos. Os óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus* mostraram-se efetivos em reduzir a oviposição das fêmeas de *A. aegypti* nos testes, com e sem chance de escolha.

5.4.1 Repelência de oviposição á fêmeas de *Aedes aegypti* em teste de múltipla escolha

Observou-se oviposição em todos os substratos (CL₅₀, CL₉₀ e água) nos blocos referente aos óleos essenciais de *F. vulgare* e *C. witerianus*, no entanto, as fêmeas do vetor deram preferência a depositar seus ovos no tratamento que continha apenas água destilada. O fato da fêmea do vetor escolher o sítio de oviposição que apresente as melhores condições, esta relacionado com uma maior chance de sobrevivência dos ovos, garantindo assim o sucesso na perpetuação da espécie.

No teste com *F. vulgare* foram contabilizados uma média de oviposição de 1,44 na CL₅₀, 1,56 na CL₉₀ e 3,0 no grupo controle com água, enquanto que para *C. witerianus*, essas concentrações receberam uma média de 1,56, 1,61 e 2,89 ovos, respectivamente. As médias obtidas apresentaram diferenças significativas pelo teste de Friedman ($p < 0.05$) (Tabela 3).

A presença de ovos nos tratamentos com a CL₅₀ e CL₉₀, não invalida a bioatividade desse produto frente às fêmeas de *A. aegypti*, comprovada a partir dos IOAs para os óleos essenciais de *F. vulgare* (- 0,7 para CL₅₀ e CL₉₀) e de *C. witerianus* (CL₅₀ de -0,5 e CL₉₀ de -0,6) (Tabela 3). De acordo com Hwang et al. (2003), o IOA, varia de -1 a +1. Onde, os valores positivos indicam uma atração ou uma estimulação á oviposição, enquanto que os valores negativos indicam uma repelência ou ação deterrente a oviposição. Ainda de acordo com esse mesmo autor os valores positivos, igual ou superior a +0,3 indicam que o material é atraente, enquanto os valores negativos ou inferiores a -0,3 indicam repelência. Os resultados dos IOA para o teste de múltipla escolha, tanto para *F. vulgare* quanto para *C. witerianus* foram valores negativos, caracterizando os óleos essenciais destas espécies como substâncias potenciais de repelência, inibindo a oviposição do mosquito.

O fato de se ter encontrado ovos nas soluções testes pode ser atribuído as grandes quantidades de ovos nas soluções controle, levando as fêmeas a evitar esses ambientes de alta densidade para não gerar competição entre a prole, e também por se estar em ambiente confinado, onde não havia alternativas para as fêmeas do vetor.

Tabela 3 - Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos óleos essenciais com múltipla escolha através do teste de Friedman ($\alpha = 0,05$), com respectivo qui-quadrado(χ^2), grau de liberdade(g.l), médias individuais e IOA .

	<i>F. vulgare</i>	<i>C. witerianus</i>
Média CL ₅₀	1,44	1,50
Média CL ₉₀	1,56	1,61
Média (água)	3,0	2,89
χ^2	15,250	14,296
g.l	2	2
IOA**	CL ₅₀ = -0,7 CL ₉₀ = -0,7	CL ₅₀ = -0,5 CL ₉₀ = -0,6
*p-valor	0, 000	0,001

*Se o p-valor for $< 0,05$ rejeita a hipótese nula (H^0). **Índice de oviposição ativa.

A ação repelente de *F. vulgare* encontrada no presente estudo, corrobora com resultados descritos por Kim (2002), onde o extrato metanólico deste vegetal demonstrou grande atividade repelente contra o *A. aegypti*. Porém, Andrade (2010) relatou que o óleo de *F. vulgare*, mostrou-se atrativo para as fêmeas da *Aphis gossypii* (pulgão) nos discos tratados em experimento com chance de escolha, favorecendo a produção de ninfas e consequentemente o sucesso reprodutivo da espécie, contrariando os resultados do presente estudo.

No entanto, este mesmo autor, constatou grande eficácia de repelência para *Aphis gossypii* entre os óleos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) e *Cymbopogon winterianus* (L.) (Poaceae), sendo este último o que apresentou maior porcentagem de ação repelente, corroborando assim com os resultados obtidos na presente pesquisa para este vegetal.

5.4.2 Repelência de oviposição á fêmeas de *Aedes aegypti* em teste sem chance de escolha

A repelência dos óleos essenciais sobre o comportamento de oviposição do vetor da dengue no teste sem chance de escolha seguiu a mesma tendência do teste de múltipla escolha. Porém, houve um aumento no número de ovos depositados no tratamento teste em relação ao encontrado no tratamento com múltipla escolha.

Foram observadas oviposição em todos os tratamentos, tanto no que foi constituído de *F. vulgare* como no de *C. witerianus*, além do grupo controle. No teste com *F. vulgare* foram contabilizados em média 8,67 ovos na CL₅₀, 13,67 para a CL₉₀, enquanto que para *C. witerianus*, essas concentrações receberam uma média de 10,67 e 8.89 ovos, respectivamente. Nesses testes a solução controle recebeu em 20,17 e 22,44 ovos de *A. aegypti*, respectivamente, as médias obtidas apresentaram diferenças significativas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$) (Tabela 4).

Observou-se que a quantidade de ovos no grupo controle foi aproximadamente 70% a 90% superior em relação ao que foi ovipositado nas soluções testes (CL₅₀ e CL₉₀) de *F. vulgare* e *C. witerianus*. Os IOAs para os óleos essenciais de *F. vulgare* (CL₅₀ de -0,6 e CL₉₀ de -0,3) e de *C. witerianus* (CL₅₀ de -0,5

e CL₉₀ de -0,9) corroboram os resultados do teste com chances de escolha (item 5.4.1), afirmando a propriedade de repelência desses produtos.

Tabela 4: Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos óleos essenciais sem chance de escolha através do teste de kruskal-Wallis $\alpha=0,05$, com respectivo qui-quadrado (χ^2), grau de liberdade (g.l), médias individuais e IOA.

	<i>F. vulgare</i>	<i>C. witerianus</i>
Média CL ₅₀	8,67	10,67
Média CL ₉₀	13,67	8,89
Média (água)	20,17	22,44
χ^2	9,963	18,703
g.l	2	2
IOA**	CL ₅₀ = -0,6 CL ₉₀ = -0,3	CL ₅₀ = -0,5 CL ₉₀ = -0,9
*p-valor	0,007	0,000

*Se o p-valor for <0,05 rejeita a hipótese nula (H⁰). **Índice de oviposição ativa.

A CL₉₀ de *C. witerianus* foi à concentração que apresentou a maior capacidade de repelência a oviposição de *A. aegypti*. Essa planta tornou-se conhecida por fornecer matéria-prima para a fabricação de repelentes contra insetos. O óleo essencial é rico em citronelal, geraniol e limoneno, que são citados em diversos trabalhos como sendo constituintes dotados de grande potencial de repelência. No Brasil, o efeito repelente do óleo essencial de *C. witerianus* vem sendo relatado como eficiente para diversas espécies de insetos (SILVA JUNIOR, 2003).

Outros autores avaliaram ação repelente ou deterrente de plantas sobre outros grupos de insetos, entre eles: Xavier (2009) constatou o efeito tóxico e repelente do óleo essencial de *C. witerianus* sobre abelhas *Apis mellifera*, encontrando também resposta positiva para os óleos essenciais do alho, andiroba e eucalipto. O efeito repelente de *C. witerianus* também vem sendo relatado para a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (LABINAS; CROCOMO, 2002). Martinez e Meneguim (2003), avaliaram o potencial inibidor de oviposição de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) e constataram que o óleo emulsionável de *Azadirachta indica* (nim) agiu de forma a inibir a oviposição deste inseto praga. Ainda observou-se, que quando oferecidos mais de um tipo de substrato para ovipor, que o inseto preferiu o substrato controle com água destilada

e quando não havia chance de escolha, o percentual de oviposição caiu significativamente quando comparado ao grupo controle. Dessa forma, mesmo se tratando de insetos e óleos vegetais distintos do presente estudo, quando submetidos a experimentos com e sem chance de escolha de um substrato de oviposição, ambos repeliram as soluções testes, escolhendo o controle com água para depositar os ovos.

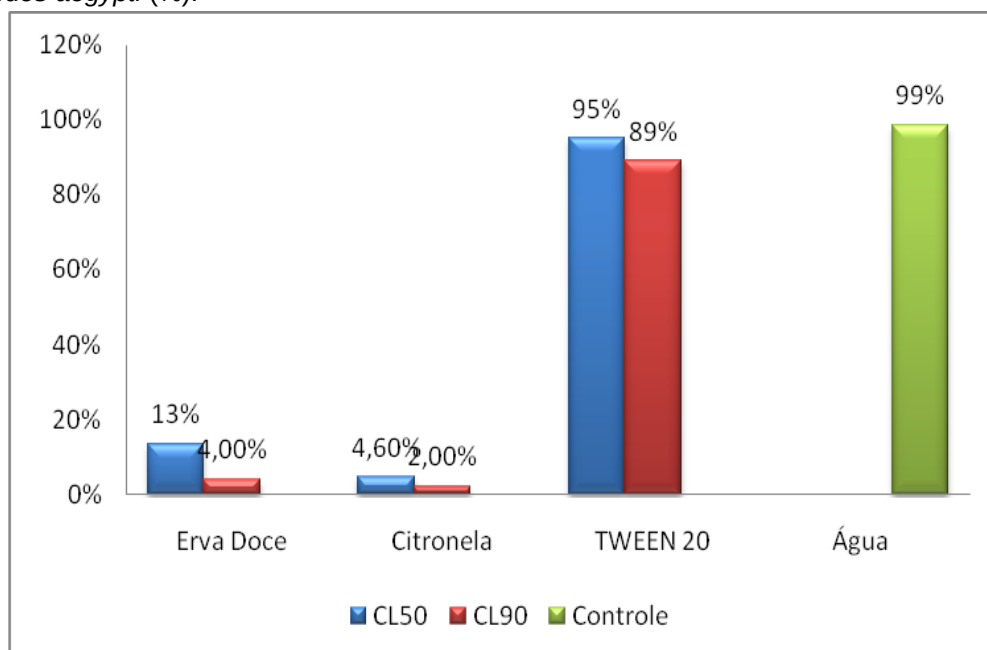
Trabalhos sobre repelência de oviposição em *A. aegypti* são bastante escassos, sendo mais comuns os que discorrem sobre atraentes para oviposição. Por esse motivo, a discussão do presente trabalho foi fundamentada principalmente na potencialidade de produtos naturais como repelente para oviposição de insetos. O efeito repelente de oviposição é uma propriedade relevante a ser considerada na escolha de um óleo essencial para o controle de insetos vetores. De modo geral, quanto maior a repelência, menor será a infestação, resultando na redução ou supressão da postura e, conseqüentemente, do número de insetos emergidos e uma diminuição dos casos de dengue.

5.5 Efeito ovicida dos óleos essenciais sobre *Aedes aegypti*

Pode-se constatar que os óleos essenciais de erva-doce e citronela apresentaram potencial atividade ovicida frente ao *A. aegypti*. O percentual de eclosão mostrou-se bastante reduzido tanto para as CL₅₀ e CL₉₀ dos óleos de *Foeniculum vulgare* (13% e 4%), como para *Cymbopogon winterianus* (4,6% e 2%), respectivamente (Figura 4). Ao compararmos esses percentuais de eclosão com o obtido no grupo controle (99%), fica evidente o potencial ovicida destes produtos vegetais (Figura 4).

O emulsificante TWEEN 20 foi utilizado como controle, fez-se uso dos maiores valores das CL₅₀ e CL₉₀, referentes aos produtos vegetais para avaliar sua influência nesse bioensaio. Observou-se uma taxa de eclosão de 95% e 89%, respectivamente para as CL₅₀ e CL₉₀, demonstrando uma diferença quantitativa de eclosão em relação aos tratamentos com óleos essenciais, assemelhando-se aos valores observados no grupo controle com água, excluindo assim, a hipótese de interferência negativa dessa substância no processo de eclosão das larvas desse vetor.

Figura 4: Atividade ovicida dos óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* sobre *Aedes aegypti* (%).



As baixas porcentagens de eclosão larval e consequentemente, maior poder ovicida dos óleos essenciais, também foram observados por Leyva et al. (2009), ao avaliar os óleos de *Pinus caribaea* e *Pinus tropicalis*, constatando uma inviabilidade dos ovos do *A. aegypti* em até 94%. Corio et al. (2007), observou potencial larvicida e ovicida das folhas e dos frutos da *Melia azedarach* sobre o *A. aegypti*.

No entanto, resultados diferentes ao observado no presente estudo foram obtidos por Cândido (2011), ao avaliar a influência dos óleos vegetais de *Ricinus communis* (mamoneira) e *Cnidioscolus phyllacanthus* (faveleira) na embriogênese dos ovos de *A. aegypti*, pois os produtos vegetais utilizados apresentaram resultados pouco significativos, com altas taxas de eclosão de 60% para *R. communis* e 95% para *C. phyllacanthus*.

O potencial ovicida do óleo de citronela observado neste trabalho, também foi encontrado para *Spodoptera frugiperda*, resultando em apenas 0,38% de eclosões dos ovos (GONÇALVES et al., 2007). Já o óleo da semente de *Azadirachta indica* (nim) na concentração de 100 mg.mL, inibiu a eclosão dos ovos do díptero *Lutzomyia longipalpis*, em até 65 % (MACIEL et al., 2010).

Baseando-se no fato de que ovos de *A. aegypti* podem se manter viáveis por vários meses, e, assim, garantir a manutenção da espécie e transmissão do vírus da dengue, é necessário que medidas sejam tomadas no sentido de diminuir a

infestação vetorial. Neste sentido, interromper ou mesmo evitar o desenvolvimento embriológico do mosquito é de grande importância no controle do vetor e consequente transmissão do vírus.

Ao avaliarmos a atividade ovicida de produtos vegetais, os resultados obtidos neste estudo apresentam-se promissores, pois as taxas de eclosão dos ovos do *A. aegypti* nos grupos testes foram ínfimas quando comparadas com a taxa de eclosão do grupo controle. Por apresentarem grande resistência às adversidades do ambiente, os ovos são considerados um elo importante entre a dispersão do vetor e o seu controle. Dessa maneira, os resultados obtidos neste estudo são relevantes, visto que indicam uma alternativa viável para a diminuição das taxas de eclosão dos ovos do *A. aegypti*.

6 CONCLUSÕES

- Os óleos essenciais avaliados interferiram negativamente nos estágios de ovo, larva e adulto do *Aedes aegypti*.
- A variação de mortalidade das larvas de terceiro e/ou quarto instar do *A. aegypti*, está relacionada com o aumento da concentração de óleo essencial utilizado.
- Os óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* demonstraram toxicidade ao estágio larval de t terceiro e/ou quarto instar de *A. aegypti*, no entanto o óleo essencial de *F. vulgare* requereu uma menor concentração do produto para causar 50 e 90% de mortalidade.
- O emulsificante TWEEN 20 não causou mortalidade em larvas de terceiro e/ou quarto instar de *A. aegypti*.
- Os óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Cymbopogon witerianus* causaram mortalidade em adultos de *A. aegypti*.
- A partir dos resultados obtidos através do Índice de Oviposição Ativa, os dois óleos essenciais demonstraram ação repelente na oviposição de fêmeas de *A. aegypti*.
- As doses letais CL₅₀ e CL₉₀ dos óleos essenciais, influenciaram negativamente na viabilidade de ovos desse mosquito, caracterizando um alto potencial ovicida.

REFERÊNCIAS

- ADAMES, E. A. **Ecologia y Evaluacion de Sumilarv, 0,5 G (Juvenóide: Pyriproxyfen) sobre moscas (Diptera: Muscidae) en Panamá.** 1993. Dissertação (Mestrado) - Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Panamá, Panamá.
- AGUILERA, L. et al. Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Cubana Medicina Tropical**, v. 55,n.5, p.100-104, 2003.
- AGNOLIN, C. A. **Óleo de citronela no controle de ectoparasitas de bovinos.** 2009. 65f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- ALDAMA, P. C.; GARCIA, F. J. H. Ciclo de vida Del *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. **Acta Pediátrica de México**. México, DF, v. 22, n. 2, 2001.
- ANDRADE, L. H. de. **Efeitos de formulações de inseticidas botânicos e óleos essenciais sobre a biologia e comportamento de *Aphis gossypii* glover (Hemiptera: Aphididae), em algodoeiro.** 2010. 72 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010. Cap. 4.
- ARRUDA, W.; OLIVEIRA, G.M.C.O.; SILVA, G. Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubeens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, 2003.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n.2, p. 446-475, fev. 2008.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti*: Resistencia aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v.1, n.2, p. 62-73, nov. 2005
- BESERRA, E. B. et al. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 6, p. 853-860, nov. 2006.

BESERRA, E. B. et al. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 36, n.2, p. 303-307, 2007.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R M ; RIBEIRO, P. S. Relação entre densidade larval e ciclo de vida, tamanho e fecundidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em laboratório. **Neotrop. entomol.** vol.38, n.6, pp. 847-852, 2009.

BESERRA, E. B. et al. The Effect of water quality in life cycle and in the attraction for the egg oviposition of *Aedes aegypti*(L.) (Diptera:Culicidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39, n. 6, p. 1016-1023, 2010.

BOLETIM EPIDEMIOLOGICO DA DENGUE, Governo da Paraíba, nº 15, 30 de abril de 2011.

BUENO, V.S.; ANDRADE, C.F.S.; Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.2, p.215-219, 2010.

CÂMARA, F. P. et al. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 192-196, mar-abr. 2007.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, 2001.

CANDIDO, L. P. **Bioatividade de extratos vegetais sobre os diferentes estágios do ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia)aegypti* (L.1762)**. 2011. 108f. Dissertação (mestrado)- Programa de Ciência e Tecnologia Ambiental, Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba.

CASTRO, L. O. de. **Plantas medicinais, condimentares e aromáticas**: descrição e cultivo. Guaíba: Agropecuária, 1995. 195p.

CASTRO, L.O.; RAMOS, R.L.D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais. **Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agrária, n.11.** Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária. Secretaria da Ciência e Tecnologia, Rio Grande do sul, 2003, p.28.

CAVALCANTI, E. S. B. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.. 99, n.5, p. 541-544, ago. 2004.

CHUNG, I. M.; RO, H. M.; MOON, H. I. Major essential oils composition and immunotoxicity activity from leaves of *Foeniculum vulgare* against *Aedes aegypti* L. **Immunopharmacol Immunotoxicol**, nov., 2010.

CONSOLI, R. A.G. B. et al. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência de larvas de *Aedes fluviatilis* (LUTZ) (DIPTERA: CULICIDAE) em laboratório. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 87-93, jan.-mar. 1988.

CONTI, B. et al. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 107, n. 6, p. 1455-1461, 2010.

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. São Paulo: Editora SENAC, 2002.

CORIO, C. et al. Larvicide and oviposition deterrents effects of fruit and leaf extracts from *Melia azedarach* (L.) on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Bioresourc Technology**, v.99, p. 3066 - 3070, 2007.

COSTA, M. A. R. **A Ocorrência do *Aedes aegypti* na Região Noroeste do Paraná: um estudo sobre a epidemia da dengue em Paranavaí – 1999, na perspectiva da Geografia Médica**. 2001. 214 f. Dissertação (Mestrado em Institucional em Geografia). Universidade Estadual Paulista - Faculdade Estadual de Educação Ciências e Letras de Paranavaí, Presidente Prudente.

COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p.304-309, out. 2005.

DENGUE, 2010. Entenda a dengue. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/flash/cartilha_dengue.html>. Acesso dia: 20/05/2011.

EMFAL. **Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos**. FISPQ.n 208, 2007. www.emfal.com.br/álcool/arquivosprodutos. Acesso em: abril, 2011.

FERREIRA, J.T.B.; CORREA, A.G.; VIEIRA, P.C; **Produtos Naturais no Controle de Insetos**, Edufscar, p.30, 2001.

FORANTTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Edusp. 2002. cap.14, p. 453-492.

FRANCO, O. Reinfestação do Pará por *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 21, n. 4, p. 729-731, 1969.

FURTADO, R. F et al. Atividade Larvícida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p.843-847, 2005.

FUNASA (Fundação Nacional de Saúde), Dengue, Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor, **Manual de Normas Técnicas**. 3. Ed. Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 2001, 84p.

GARGA, C. et al. Chemical composition, therapeutic potential and perspectives of *Foeniculum vulgare*. **Phcog Rev**, v. 3, p. 346-52, 2009.

GONÇALVES, R.A.; ZANIN, D.G.; LABINAS, A. M. Ação do óleo essencial de nim e citronela na eclosão de *Spodoptera frugiperda*. **Biológico**, São Paulo, v.67, n.1, p.25-51, jan.- jun., 2007.

HWANG,Y.S.; SCHULTZ,AXELORD,H.; KRAMER,W.L.; MULLA,M.S. Oviposição repellency of fatty acids and their derivates against *Culex* an *Aedes* mosquitoes.**Environn Entomol**.11: p.223-226, 2003.

INFORME. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Coordenação-Geral do Programa Nacional de Controle da Dengue Balanço. **Dengue Informe**, p. 1-12, jan. – mar. 2011. Disponível em:

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_dengue_2011_janeiro_e_marco_13_04.pdf. Acesso dia: 20/05/2011.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-46, jan. 2006.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L. O.J. Controle biológico de insetos mediante extratos botânicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p.137-160.

KELSEY, R. G.; REYNOLDS, G. W.; RODRIGUEZ, E. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA, I. **Biology and Chemistry of plant trichomes**. Plenum Press: New York, 1984.

KIM, D. H. Insecticidal and repellent activities of *Foeniculum vulgare* fruit-derived materials. **M.S. thesis**, Seoul National University, Suwon, Republic of Korea, 122 p. 2000.

KIM, D. H.; AHN, Y. J. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum Vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. **Pest. Manag. Sci.** v. 57, p. 301-306, 2001.

KIM, D.H.; KIM, S. I. L.; CHANG, K. S.; ANH, Y. J. Repellent Activity of Constituents Identified in *Foeniculum vulgare* Fruit against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.24, p. 6993- 6996, out. 2002.

KRAMER, W. L.; MULLA, M.S. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition response of *Culex* mosquitoes to organic infusions. **Environmental Entomology**, v. 8, p. 1111- 1117, 1979.

KUBOTA, R. L. ; et al. Método de varredura para exame de criadouros de vetores de dengue e febre amarela urbana. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 2, p. 263-265, 2003.

LABINAS, M. A.; CROCOMO, W. B. Effect of java Grass (*Cymbopogon winteranus*) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 24, n. 5, p. 1401-1405, 2002.

LEE, H.S. Acaricidal Activity of Constituents Identified in *Foeniculum vulgare* Fruit Oil against *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.10, p. 2887-2889, abr. 2004.

LEYVA, M. et al. Utilización de aceites esenciales de pináceas endémicas como una alternativa en el control del *Aedes aegypti*. **Rev Cubana Med. Trop.**, v.61, n.3, p. 239-243, 2009.

LIMA, E. P. et al. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em Municípios do Estado do Ceará **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v.39, n.3 , p. 259-263, mai.-jun., 2006.

LIMA, A. C. F. et al. Constituintes químicos do caule de *Spathelia excelsa* (Rutaceae) e atividade frente a *Aedes aegypti*. **Quim. Nova**, v. 32, n. 8, p. 2068 - 2072, 2009.

LUCCA, P. S. R. Potencial inseticida de extratos de funcho, erva-doce e cravo-da-índia e do preparo homeopático para o controle de pulgão em couve. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado)- Curso de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel- Paraná, Brasil.

LUNA, J. E. D. et al. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 842-843, 2004.

MACIEL, M. V. et al. Atividade inseticida in vitro do óleo de sementes de nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Rev. Bras. Parasitol**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 7-11, jan.-mar. 2010

MAIA, N. B.; BOVI, O. A.; DUARTE, F. R.; CALHEIROS, M. B. P.; Citronela-de-Java (*Cymbopogon nardus*). In:_____. **Instruções Agrícolas para as Principais Culturas Econômicas. Campinas, Instituto Agrônomo. 6.^a Ed. Campinas. Boletim 200, 1998. p. 11.**

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Atheneu, 2001.

MARTINEZ, S. S.; MENEGUIM, A. M. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, n. 67, p. 58-62, 2003.

MARTINS, F.; SILVA, I. G. Avaliação inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1763) Diptera, Culicidae. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n.2, p. 135-138, mar/abr, 2004.

MATA, M. F. et al. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, Cactaceae). **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 327-334, out./dez. 2009.

MENDONÇA, F. A. de et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 8, p.629-636, dez. 2005.

MORAES, J. M. de. **Bioatividade de extratos de Annonaceae sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. 53p. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais- Universidade do Estado de Mato Grosso.

NAKATANI, M. et al. *Phragmalin limonoids* from *Chukrasia tabularis*. **Phytochemistry**, v.65, n. 20, p. 2833–2841, out. 2004.

NAVARRO- SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n.1, p. 1-6, mar. 2009.

OLIVO, C. J. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.406-410, mar-abr. 2008.

OMS- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Disponível em: <http://www.who.int/en/>, acesso dia 11 de junho de 2011.

OPS. Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, Región de 48. Lãs Américas- 2007. Disponível em: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/eid-eer-2007-09-26.htm>. Acessado em: 31/03/2011.

PARAIBA utilizará novo larvicida contra a dengue e estado capacitará técnicos. Secom PB. João Pessoa, 2009.

PITASAWAT, B. et al. Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. **Fitoterapia**, v.78, p. 205-210, fev. 2007.

PONTES, R. J. S.; RUFFINO-NETO. A Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Revista de Saúde Pública**, v.28, n. 3, p. 218-227. 1994.

PORTO, K. R. et al. Larvicidal activity of *Anacardium humile* Saint. Hill oil on *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.41, p. 586-589, 2008.

RAVEN, P. H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S. E. A composição molecular das células vegetais. In:_____ **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2001. p. 17-39.

RESENDE, M. C.; GAMA, R. A. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39, n. 1, p. 72-75, jan.-fev. 2006.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. F. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**. 9. ed. Baltimor: Williams and Wilkins, 1996.

ROCHA, S.F.R.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira P.L.Med.** v. 3, p. 73-78, 2000.

ROEL, A. R. et al. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 29, n. 4, p. 799-808, dez. 2000.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional do Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v.1, n.2, p. 43-50, 2001.

ROTHMAN, A. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. **The Journal of Clinical Investigation**, v.113, n. 7, p. 946-951, abr. 2004.

SANDES, A.R.R; BLASI, G. Biodiversidade e diversidade química e genética. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, v. 13, p; 28-37. 2000.

SANTANA, M. F. S. **Erva-doce: uma amarga realidade**. Levantamento etnobotânico da cultura da erva-doce *Foeniculum vulgare* (Gaetn) nos municípios de Remígio e Esperança na Paraíba. Areia: UFPB, 1994. 58p.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista brasileira plantas medicinais**, Botucatu, v.11, n.4, p. 442-449. 2009.

SILVA, H.H.G.;et.al. Atividade larvica de taninos isolados de *Magoniua pubescens* St.Hil.(Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti*(Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, n.5, p.396-399, set.-out. 2004.

SILVA-JUNIOR, A.A. **Essentia herba – plantas bioativas**. Florianópolis: Epagri, v. 1, 2003. 441p.

SILVA, J.J.; MENDES J. Effect of diflubenzuron on stages of *Hematobia irritans* (L.) (Diptera,Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.679-82, 2002.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue? Atividade larvica de *Myroxylon balsamum* (Óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 1, p.46-49, 2004.

SIMÕES, C.M.O. et al.1999. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: ed. UFRGS/ ed. UFSC.

SIQUEIRA-JR., J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, n.1, p.48-53, 2005.

SOUSA, L. A., ALBUQUERQUE, J.C.R., LEITE, M.N., STEFANINI, M.B. Sazonalidade dos ductos secretores e óleo essencial de *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill.(Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 155-161, 2005.

SOUSA, R. M. O. de. **Fragrâncias vegetais com actividade anti-insecto : óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* P. Mill., *Foeniculum vulgare* Mill., *Petroselinum crispum* (Mil.) A.W. Hill e *Anethum graveolens* L. e suas actividades contra *Anopheles atroparvus* van Thiel, 1927 (Diptera, Culicidae).** 2009. Dissertação de mestrado em Biotecnologia e Bio-empREENDEDORISMO em Plantas Aromáticas e Medicinais. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1822/10749>, acesso dia 15 de março de 2011.

SOUZA, I. C. A.; VIANNA, R. P. T.; MORAES, R. M. Modelagem da Incidência do Dengue na Paraíba por Modelos de Defasagem Distribuída. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.11, p. 2623-2630, Nov. 2007.

SOUZA, M. P. Erva Doce. **Cadernos de Prospecção**, v. 1, n. 1, p. 28-29, 2008.

SPITZER, C. M. O. S. V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ufsc, 2004. cap. 18, p. 467-495.

SVS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Dados e indicadores selecionados**. Brasília: Ministério da Saúde; 2007. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/indicadores_vig_ambiental_2007.pdf>, acesso em: agosto de 2010.

TANU, P. A. ADHOLEYA, A. Effect of different organic manures/composts on the herbage and essential oil yield of *Cymbopogon witerianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 311-319, 2004.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17, p. 99-102, 2001.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p.867-871, mai. 2002.

TAWATSIN, A. et al. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. **Journal of the Society for Vector Ecology**, v. 26, p. 76-82, 2001.

TEIXEIRA, M. da G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e Medidas de Prevenção da Dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, v.8, n.4, p. 5-33, 1999.

TEIXEIRA, M. G.; et al. Avaliação de impacto de ações de combate ao *Aedes aegypti* na cidade de Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 1, 2002.

TESKE, M. TRENTINI, A.M.M. **Herbarium**: Compendio de fitoterapia. Paraná: Herbarium Lab.Botânico, 1995.

TRABOULSI, A. F. et al. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Pest Manag Sci**. v.61, n.6, p. 597-604, 2005.

TRUMBLE, J. T. Caveat emptor: safety considerations for natural products used in Arthropod control. **American Entomologist**, v. 48, n.1, p. 7-13, 2002.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 2000. p.113-128.

WHITEHEAD, S.S. et al. A live, Attenuated Dengue Virus Type 1 Vaccine Candidate with a 30-Nucleotide Deletion in the 3'Untranslated Region Is Highly Attenuated and Immunogenic in Monkeys. **Journal of Virology**, v. 77, n.2, p. 1.653 -1.657, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Problemas Técnicos de las Operaciones de Lucha Antivectorial. Primer Informe del Comité de Expertos de la OMS em Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial**. Serie de Informes Tecnicos. n. 603, p.44,1977.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2009. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>>. Acesso dia: 20 de Junho, 2011.

XAVIER, V. M. **Impacto de inseticidas botânicos sobre *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca augustula* (Hymenoptera: Apidae).** 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. Cap. 1.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. **Food Chemistry**, 2011.

ZWIEBEL, L. J.; TAKKEN, W. Olfactory regulation of mosquito-host interactions. **Insect Biochemistry And Molecular Biology**, n. 34, p.645-652, 2004.