



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BIOLOGIA**

TATIANY FERNANDES QUIRINO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE SOLUÇÃO DE *Nicotiana tabacum* L.
(SOLANACEA) PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*(L.) (DIPTERA:CULICIDAE)**

**CAMPINA GRANDE – PB
2010**

TATIANY FERNANDES QUIRINO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE SOLUÇÃO DE *Nicotiana tabacum* L.
(SOLANACEA) PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*(L.) (DIPTERA:CULICIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso (TCC)
apresentado ao Curso de Licenciatura e
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento às exigências para obtenção do grau
de Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra

CAMPINA GRANDE – PB

2010

- Q82a Quirino, Tatiany Fernandes.
Avaliação do potencial inseticida de solução de *Nicotiana tabacum* L. (Solanacea) para o controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae) [manuscrito] / Tatiany Fernandes Quirino. – 2010.
54 f.
- Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2010.
“Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, Departamento de Biologia.”

1. Dengue. 2. *Aedes Aegypti*. 3. Inseticida. I. Título.

21. ed. CDD 616.921

TATIANY FERNANDES QUIRINO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE SOLUÇÃO DE *Nicotiana tabacum* L.(SOLANACEA) PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*(L.)
(DIPTERA:CULICIDAE)**

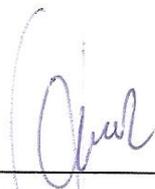
Aprovada em 17 de 12 de 2006

BANCA EXAMINADORA



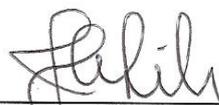
Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra - UEPB

Orientador



Msc. Ivan Coelho Dantas-UEPB

Examinador Interno



Prof. Dr. Humberto Silvia-UEPB

Examinador Interno

Dedicatoria

**A Deus meu grande mestre e Senhor e
aos meus pais Marinézio Cândido Quirino
e Maria do Socorro Fernandes Quirino**

Dedico

Agradecimentos

A Deus simplesmente por tudo.

À Universidade Estadual da Paraíba, em especial ao Departamento de Biologia por contribuir para minha formação desde o ingresso no curso de graduação em Ciências Biológicas e iniciação científica no período de 2008/2009.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, pela dedicação e orientação em todos esses anos, tendo aceitado mais esse desafio. Obrigada por estar sempre disposto a ensinar e compartilhar seus valiosos conhecimentos. Obrigada pela simplicidade e paciência e por ter contribuído para minha vida pessoal e profissional.

Aos professores e funcionários do Departamento Biologia, em especial aos que ministram as disciplinas para a turma 2007.1, os quais se propuseram a compartilhar seus conhecimentos conosco.

Ao professor Alessandro do departamento de farmácia pela orientação e atenção na obtenção dos extratos dispondo os matérias e laboratório farmacotécnica.

Aos meus pais Marinézio Cândido Quirino e Maria do Socorro Fernandes Quirino pelo amor, dedicação e apoio em todas as etapas percorridas, sempre me incentivando a continuar e nunca desistir. Obrigada por serem exemplos na minha vida e terem me ensinado a ser uma pessoa de caráter, que busca seus objetivos, respeitando os dos outros. Obrigada por terem me proporcionado o bem mais precioso da vida: a educação.

Aos meus irmãos Michel Fernandes Quirino e Levi Fernandes Quirino pelo carinho, amizade e por estarem presentes em todos os momentos da minha vida. E minhas cunhadas Luana Andrade Lima Quirino e Sayonara Ramos Macelino pela amizade e incentivo.

À minha família na pessoa dos meus avós Antonio Quirino Filho e Altina Alves Quirino; Francisco Fernandes de Medeiros e Nelsa de Oliveira Medeiros; tios e primos. E aos amigos de verdade que torcem sempre por mim e vibram com as minhas vitórias. Vocês são indispensáveis para minha vida!

A turma Ciências Biológicas 2007.1, pelos momentos de descontração e trocas de experiência. Em especial as compalheiras Sandy, Tilde, Silvia e Ingredy,

estrelas na minha vida que com seus brilhos tornaram esses anos de curso e convívio bem mais divertido .

A todos os colegas pesquisadores que fazem parte do laboratório Controle Biológico de Pragas, Debora, Dairla, Ingredy Mauricio, Paulindo, Renata, em especial a Dalvanice e Morgana que me proporcionou experiências significantes nos meus primeiros passos na pesquisa científica, Ingredy pelo companherismo . E a Renata colega de pesquisa e também técnica do laboratório, agradeço pelo incentivo e apoio na realização dos testes.

A meu querido amigo Lafayete, pela descrição de suas experiências, disponibilidade de material e orientação de grande importância para a realização do presente trabalho.

A Sandy sem palavras para descrever meus sinceros agradecimentos, você é um presente valiosíssimo na minha vida o qual Deus fez cruzar meu caminho.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada.

Deus é o sol da minha vida, vocês que fazem parte da minha formação pessoal e profissional são os raios que a iluminam .

Obrigada!!!!

*Não houve dia semelhante a este, nem antes
nem depois dele, tendo o SENHOR,
assim, atendido à voz de um homem. (...) Js 10*

RESUMO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE SOLUÇÃO DE *Nicotiana tabacum* L. (SOLANACEA) PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*(L.) (DIPTERA:CULICIDAE)

As desvantagens do uso contínuo de temefós para o controle do *Aedes aegypti*, como o risco ao meio ambiente e a saúde do homem, além do desenvolvimento da resistência a esse produto, leva à busca de alternativas que sejam eficientes no controle do vetor, como por exemplo o uso de extratos vegetais. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de solução de fumo, *Nicotiana tabacum* L., sobre amostras de populações de *A. aegypti* suscetível e resistente ao temefós. Tomou-se como população resistente amostra de *A. aegypti* coletadas no Bairro de Monte Santo em Campina Grande- PB e como suscetível a linhagem Rockefeller mantida a 6 anos em laboratório sem pressão de seleção. Os testes foram realizados à temperatura ambiente de 26 ± 2 °C e fotofase de 12 horas, aplicando-se dosagens que variou de 0,05% a 1% da solução, mais água e 1ml de álcool etílico como controle, em quatro repetições, constituídas de 25 larvas no 3º estágio tardio (L₃) e/ou 4º estágio jovem. Para se avaliar o efeito ovicida utilizou-se as CL_{50s} e CL_{90s} determinadas para a fase larval das populações resistente e suscetível ao temefós. Neste teste, para cada população, discos de papel com 25 ovos foram inseridos por 5 segundo nas soluções e então colocados em placas de Petri com 150 ml de água destilada para avaliação durante dez dias. Para o teste com pupas, populações de *A. aegypti* resistente e suscetível ao temefós, foram distribuídas em copos descartáveis de 500 ml contendo 400 ml de cada solução e 10 pupas, repetidas em quatro vezes, foram submetidas a CL₅₀ e CL₉₀ e 1ml álcool a 70% como controle, sendo a mortalidade avaliada após as 24 e 48 horas. Para a fase larval foram encontradas CL_{50s} de 0,45% e 0,12% e CL_{90s} de 0,98% e 0,25% para as populações resistente e suscetível, respectivamente. A mortalidade de ovo foi baixa. Para a população suscetível, esta foi de 0,75% quando aplicada a CL₅₀ de 0,12% e nula em uma CL₉₀ de 0,25%. Já para ovos da população resistente as mortalidades foram de 7,25% e 5% respectivamente para a CL₅₀ de 0,45% e CL₉₀ de 0,98%. Não se observou mortalidade para a fase de pupa em ambas as populações. Conclui-se que a *N. tabacum* apresenta potencial para ser utilizado como larvicida no controle do *A. aegypti*.

Palavras-chave: dengue, vetor, inseticida botânico

ABSTRACT

EVALUATION OF THE POTENTIAL OF INSECTICIDE SOLUTION *Nicotiana tabacum* L. (SOLANACEA) FOR THE CONTROL OF *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE)

The disadvantages of continuous use of temephos for the control of *Aedes aegypti*, the risk to the environment and human health, and the development of resistance to it, leads to the search for alternatives that are efficient on vector control, eg the use of plant solutin. The aim of this study was to evaluate the effect of solutin of tobacco, *Nicotiana tabacum* L., on population samples of *A. aegypti* susceptible and resistant to temephos. Was taken as resistant population sample of *A. aegypti* collected in neighborhood of Monte Santo in Campina Grande, PB, and how susceptible Rockefeller strain maintained at 6 years in the laboratory without selection pressure. The tests were performed at room temperature 26 ± 2 ° C and a photoperiod of 12 hours, applying doses ranging from 0.05% to 1% of the extract, more water and 1ml of ethanol as control, four replicates consisting of 25 larvae in the late 3rd stage (L3) and / or 4 young stage. To evaluate the ovicidal effect was used and the LC50s CL90s determined for larvae of resistant and susceptible populations to temephos. In this test, for each population, paper disks with 25 eggs were placed in solutions for 5 seconds and then placed in petri dishes with 150 ml of distilled water for ten days for evaluation. For the test with pulp, populations of *A. aegypti* resistant and susceptible to temephos, were distributed in 500-ml cups containing 400 ml of each solution and 10 pupae were repeated four times, were subjected to LC50 and LC90 and 1 ml 70% alcohol as a control, and the mortality assessed after 24 and 48 hours. For the larval stage were found LC50s of 0.45% and 0.12% and 0.98% CL90s and 0.25% for the resistant and susceptible populations, respectively. The egg mortality was low. For susceptible people, this was 0.75% when applied to LC50 of 0.12% and nil in an LC90 of 0.25%. As for the eggs of the resistant population mortality rates were 7.25% and 5% respectively for the LC50 and LC90 of 0.45% from 0.98%. No mortality was recorded for the pupal stage in both populações. Conclui that the *N. tabacum* has potential for use as a larvicide for the control of *A. aegypti*.

Keywords: dengue, vector, botanical insecticide

LISTA DE FIGURAS

PAG.

Figura 1- Área em risco de dengue em nível global em 2009-----	9
Figura 2- Salas climatizadas a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 Horas-----	19
Figura 3- Armadilha para coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> do campo-----	20
Figura 4- Seqüência de criação de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório-----	20
Figura 5- A Fumo de rolo(<i>Nicotiana tabacum</i>) obtido em feira livre de Campina Grande, B Percolador usado para extração-----	22
Figura 6- A Ovos expostos as CL90 e CL50 e concentrações letais do extrato para populações de campo de suscetível ; B Teste ovicida -----	23
Figura 7- A Teste de inviabilidade de pupa em presença de extrato de <i>N. tabacum</i> , B Tela -----	24
Figura 8: Inviabilidade de ovos de população Rockefeller exposta as CL ₅₀ , CL ₉₀ e Controle do extrato de <i>Nicotiana tabacum</i> -----	31
Figura 9: Inviabilidade de ovos de população Monte Santo exposta as CL ₅₀ , CL ₉₀ e Controle do extrato de <i>Nicotiana tabacum</i> -----	31

LISTA DE TABELAS

PAG.

Tabela 1. Resposta de concentração(%) mortalidade de *Aedes Aegypti*, população Rockfeller ao Organofosforado Temefós no estágio L3, após 24 horas de exposição. Temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas.-----27

Tabela 2. Resposta de concentração(%) mortalidade de *Aedes Aegypti*, população Monte santo e Rockfeller, ao extrato vegetal *Nicotiana tabacum*, no estágio L3, após 24 horas de exposição. Temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas-----30

SUMÁRIO

	PAG.
1. INTRODUÇÃO -----	14
2. OBJETIVOS -----	16
2.1 Objetivo geral -----	16
2.2 Objetivos específicos-----	16
3. REVISÃO DE LITERATURA -----	17
3.1 Importância <i>do A. aegypti</i> como vetor de agentes patológicos ao Homem-----	17
3.2 Métodos de controle de insetos vetores de doenças:ênfase ao gênero <i>Aedes</i> -----	19
3.3 Métodos e técnicas de produção de extratos vegetais e isolamento e extração de princípios ativos vegetais-----	19
3.4 Potencial de utilização de extratos vegetais para o controle de insetos vetores: ênfase ao gênero <i>Aedes</i> -----	21
3.4.1 Princípios ativos de origem vegetal com atividade inseticida-----	22
3.4.2 Produtos de origem vegetal e eficiência de controle-----	23
3.5. Métodos e técnicas de produção de extratos vegetais e isolamento e extração de princípios ativos vegetais-----	24
4. MATERIAL E MÉTODOS -----	26
4.1 Bioensaio de Laboratório-----	26
4.1.1 Obtenção da população de <i>A.aegypti</i> resistente e suscetível ao temefós-----	26
4.1.2 Análise dos dados-----	28
4.1.3 Obtenção do extrato-----	28
4.1.4 Atividade larvicida de extratos de <i>Nicotiana tabacum</i> -----	29
4.1.5 Efeito ovicida de extratos de <i>Nicotiana tabacum</i> -----	29
4.1.6 Efeito do extrato de <i>Nicotina tabacum</i> sobre pupas de população resistente e suscetível -----	30
4.1.7 Análise dos dados-----	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	32
6. CONCLUSÃO -----	42
7. REFERÊNCIAS -----	43

1. INTRODUÇÃO

A dengue, transmitida ao homem pela picada do mosquito *Aedes aegypti*, é considerada como a arbovirose mais freqüente com uma estimativa de 50 a 100 milhões de casos por ano em todo o mundo (NOGUEIRA, 2005). É uma doença febril aguda, cujo agente etiológico é um vírus do gênero *Flavivírus* (TAUIL, 2001).

A importância da dengue está relacionada à sua morbidade, mortalidade e necessidade de várias estratégias para o seu controle (PESSANHA et al., 2002). O combate ao *A. aegypti* é o único elo passível de intervenção no controle do dengue, pois até o momento não existe vacina nem tratamento específico para a doença (MEDRONHO, 2008).

Apesar dos importantes avanços alcançados no desenvolvimento de métodos alternativos, os inseticidas químicos continuam sendo uma importante ferramenta dos programas integrados de controle (ROSE, 2001). Desde a implantação do Plano para Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) o uso de organofosforados em programas de saúde pública no Brasil foi ampliado consideravelmente pela adição de cerca de 5 mil toneladas de temefós por ano(FNS, 2001).

A resistência do *A. aegypti* ao temefós vem sendo relatada em diversas localidades brasileiras, a exemplo do município de Campinas (CAMPOS; ANDRADE, 2001), do Distrito Federal (CARVALHO et al., 2004), e em municípios dos estados do Ceará (LIMA et al., 2006) e da Paraíba (BESERRA et al., 2007).

Atualmente novas pesquisas estão sendo desenvolvidas em busca de alternativas aos inseticidas sintéticos como, por exemplo, a utilização de substâncias naturais como os extratos de plantas com atividade inseticida. Estímulos às pesquisas com substâncias vegetais que visam o controle de insetos vetores de doenças, como a dengue, são motivados pela não toxicidade destes produtos a maioria dos animais e plantas e pelo fato de serem biodegradáveis evitando a contaminação do meio ambiente (PIMENTA et al., 2006).

O uso de plantas com propriedades inseticidas não é uma prática recente (ROEL et al., 2000). Os primeiros fitoinseticidas a serem utilizados foram: A nicotina extraída da *Nicotiana tabacum* L. (fumo), a piretrina extraída do *Chrysanthemum cinerariaefolium*, a rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp., a rianodina extraída de *Rhyania*

speciosa, e a sabadina e outros alcalóides extraídos de *Schoenocaulon officinale* (LAGUNES; RODRÍGUEZ, 1992). Efeitos larvicidas contra *A. aegypti* já foram constatados para os extratos de *Magonia pubescens* (ARRUDA et al., 2003), *Vanillosmopsis arborea* (FURTADO et al., 2005), *Pterodon polygalaeflorum* (Leguminosae) (PIMENTA et al., 2006), *Copaifera reticulata* (SILVA et al., 2007), *Piper nigrum* (SIMAS et al., 2007) e *N. tabacum* (CÂNDIDO et al., 2006).

Assim, considerando-se a importância da utilização de inseticidas vegetais, e a escassez de estudos específicos sobre a atividade inseticida do extrato da *Nicotiana tabacum* L. frente a *A. aegypti*, torna-se necessário desenvolver pesquisas que avaliem a atividade inseticida de extratos dessa planta sobre o *A. aegypti*.

2. OBJETIVO :

Avaliar o efeito de extratos de fumo, *Nicotiana tabacum*, sobre larvas, ovos e pupas de populações de *Aedes aegypti* suscetível e resistente ao temefós.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ocorrência e distribuição mundial da dengue

A dengue, infecção viral transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, hoje é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Os casos de dengue, no ano de 2009, se distribuem em uma larga faixa abaixo e acima do Equador, 35° N a 35° S (Figura 1). Até a metade da década de 1990, o Sudeste Asiático se constituía na região do mundo mais atingida por dengue. A partir de então, os países das Américas Central e do Sul começaram a se destacar nesse cenário e passaram a contribuir com muito mais da metade dos casos notificados dessa doença no mundo. (TEIXEIRA et al., 2008).

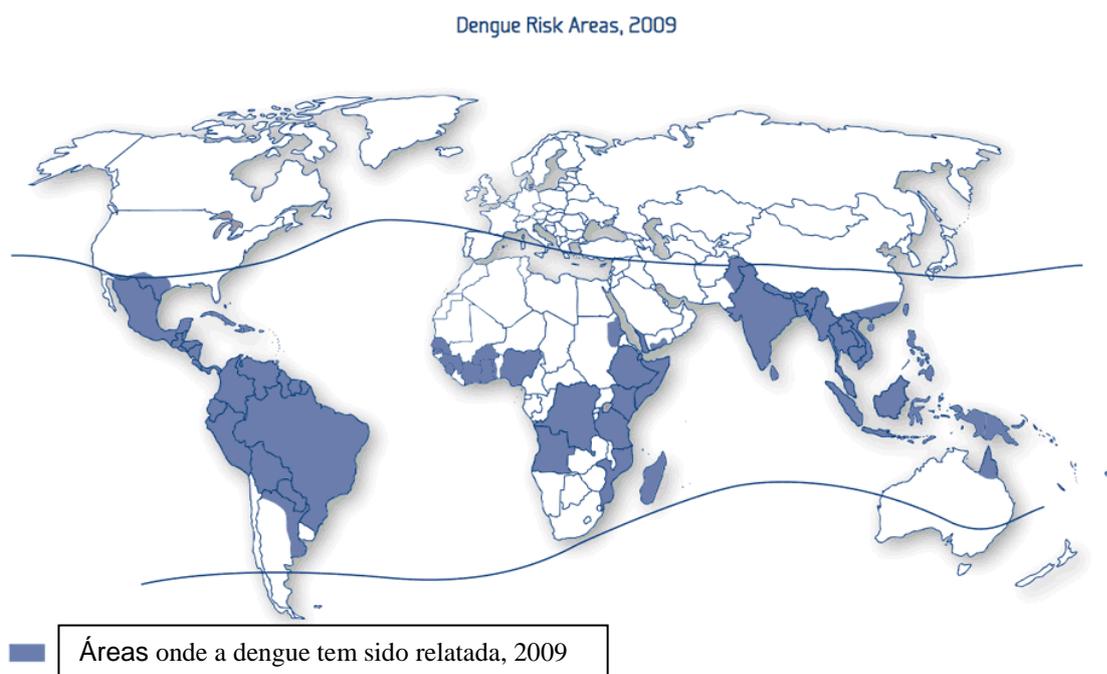


Figura 1: Área em risco de dengue em nível global em 2009., disponível em: <http://www.nathnac.org/ds/c_pages/documents/dengue_risk_areas.gif>, acesso em: 20 jan. 2010

As epidemias de dengue tiveram início no sudeste Asiático durante e após a Segunda Guerra Mundial, nas décadas de 1940 e 1950, e se expandiram para o resto do mundo nas décadas posteriores (PINHEIRO; NELSON, 1997). Os primeiros casos de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) apareceram na década de 1950, durante as epidemias nas Filipinas e na Tailândia. A partir dos anos 70, a dengue tornou-se uma das

principais causas de internação e morte de crianças em alguns países da região. Atualmente, a dengue ainda afeta a maioria dos países da Ásia e representa uma das principais causas de hospitalização e morte de crianças (HALSTEAD, 2006).

A reinfestação do *A. aegypti* no Brasil, a partir do biênio 1976-1977, criou o elo básico da cadeia epidemiológica para a reintrodução do dengue no país (TAUIL, 2002). Um recrudescimento da doença, de proporções consideradas vultosas na época, teve início em 1990, provocado pelo aumento da transmissão do DENV-1 e introdução do DENV-2, também em Nova Iguaçu. A incidência no Rio de Janeiro atingiu 165,7 por cem mil habitantes, naquele ano, e em 1991, 613,8 casos por cem mil habitantes. A entrada do DENV-2 trouxe em seu bojo os primeiros diagnósticos de FHD no país quando foram confirmados 462 casos e oito óbitos (TEIXEIRA et al., 2005; SIQUEIRA-JR. et al., 2005).

Nos anos subseqüentes a 1992, a circulação viral (DENV-1 e DENV-2) se expandiu rapidamente para outras áreas do território brasileiro, acompanhando a expansão do *A. aegypti*, e com circulação simultânea de dois sorotipos. Em 1994, após 15 anos de ausência, o DENV-3 foi reintroduzido nas Américas e, em 2000, no Brasil (NOGUEIRA et al., 2001). Na maior epidemia de dengue do Brasil, com mais de 1,2 milhões de casos notificados (2002), os vírus DENV-1, DENV-2 e DENV-3 co-circulavam (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005). Desde então o Brasil não mais busca uma erradicação do vetor, mas sim um controle devido à grande distribuição e incidência.

No ano de 2009 até 22 de janeiro de 2010 a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS) registrou 529.237 casos suspeitos de dengue no Brasil. Dentre esses foram confirmados 2.271 casos e 154 óbitos por Febre Hemorrágica da Dengue (FHD), e 5.952 casos de dengue com complicação (DCC), com 144 óbitos. A Secretaria de Vigilância em Saúde, em trabalho conjunto com as Secretarias Municipais e Estaduais de Saúde, registrou 227.109 casos notificados de dengue até a semana 9 de 2010 (dados preliminares). Dentro desse número na região Nordeste foram notificados 11.960 casos.

Na Paraíba, até a 22ª semana epidemiológica de 2010, a Secretaria de Estado de Saúde, registrou 1.764 casos suspeitos de dengue em 2010, (SES/PB,2010). Observa-se que neste período, foram confirmados 602 casos de dengue a mais que no mesmo período de 2009, representando um aumento de 134,7 %. Foram notificados 05 casos de Febre Hemorrágica da Dengue - FHD, 02 localizados no município de Brejo dos Santos,

01 em Paulista, 01 em Cabedelo e 01 em São José de Espinharas. Não foram registrados óbitos (SES/PB,2009).

3.2. Implicação do *Aedes aegypti* como vetor da dengue

O mosquito *A. aegypti*. L. é a principal espécie responsável pela difusão do dengue também vetor da febre amarela urbana, embora outras espécies como *Aedes albopictus* S. e *Aedes polynesiensis* M. possam estar envolvidas na transmissão (GUZMÁN; KOURI, 2000).

A. aegypti é um mosquito doméstico, antropofílico, com atividade hematofágica diurna e utiliza-se preferencialmente de depósitos artificiais de água limpa para colocar os seus ovos (TAUIL, 2002). 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). Entretanto, Silva et al. (1998) demonstraram que o *A. aegypti* também se desenvolve em água poluída. Neste caso a postura é feita nas paredes dos recipientes, imediatamente a cima da superfície da água onde os ovos podem ser vistos como pequenos pontos escuros. O desenvolvimento do mosquito ocorre por metamorfose completa, passando pela fase de ovo, quatros estágios larvais, pupa e adulto (FORATTINI; BRITO, 2003).

Provavelmente, esse vetor foi introduzido nas Américas a bordo de barcos vindos da Europa, que cruzavam o Atlântico durante as primeiras explorações e colonizações européias ao Novo Mundo (BISSET, 2002). Os primeiros registros de sua identificação em terras do Brasil foram em 1898, por Lutz, e em 1899, por Ribas (FRANCO,1969). Atualmente, o vetor é encontrado em uma larga faixa do continente americano, que se estende do Uruguai até o sul dos Estados Unidos da América (EUA), com a ocorrência de surtos importantes de dengue em vários países, como Venezuela, Cuba, Brasil e, recentemente, Paraguai (PAHO, 2004; BRAGA; VALLE, 2007). No Brasil, o *A. aegypti* está presente nos 26 Estados e no Distrito Federal (SVS, 2007)

Apesar de muitas pesquisas, ainda não está disponível uma vacina preventiva eficaz. Da mesma forma, não se pode contar ainda com uma terapêutica etiológica e uma quimioprofilaxia efetivas. No momento, o único elo vulnerável na cadeia de transmissão do dengue a uma medida preventiva é o vetor (TAUIL, 2002).

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

As ações de combate ao *A. aegypti* estão centradas em duas estratégias, controle ou erradicação, que se diferenciam quanto às suas metas, o que implica distintas extensões de cobertura, estrutura e organização operacional. Entretanto, ambas incluem quatro componentes básicos: saneamento do meio ambiente; ações de educação, comunicação e informação (IEC); e combate direto ao vetor (químico, físico e biológico) (TEXEIRA et al., 2002).

O saneamento visa reduzir os criadouros potenciais do mosquito mediante: aporte adequado de água para evitar o seu armazenamento em recipientes que servirão para oviposição, proteção (cobertura) de recipientes úteis, reciclagem ou destruição de recipientes inservíveis e tratamento ou eliminação de criadouros naturais (OPS, 1995; TEXEIRA et al., 1999). Da mesma forma IEC, varia conforme as definições estratégicas e a importância que é dada às ações de educação, comunicação e informação, que podem ser confinadas apenas à atuação dos agentes de saúde em cada residência, participação efetiva de setores sociais e governamentais, e à busca da participação das comunidades no processo de prevenção, implementação de metodologias pedagógicas com ênfase na necessidade de redução e eliminação dos criadouros potenciais do mosquito transmissor da dengue (TEXEIRA et al., 1999).

O combate físico ao vetor inclui: Tratamento focal, que é a eliminação das formas imaturas do *A. aegypti*, descartando os recipientes não utilizáveis que se encontram no ambiente que possam vir acumular água, bem como a lavagem da parede de recipientes não elimináveis que contêm ovos deste vetor, em pontos estratégicos (BAGLINI et al., 2005).

O controle biológico é baseado no uso de organismos vivos capazes de competir, eliminar ou parasitar as larvas ou formas aladas do vetor. O *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner (POLANCZYK, 2003) e peixes larvicidas das espécies *Gambusia affinis*, *Poecilia spp* e *Betta splendens* (PAMPLONA, 2004), têm sido os mais utilizados e preconiza-se o seu uso mais amplo nos programas de combate. Ensaios com larvas de outros mosquitos (*Toxorhynchites*), algumas pulgas d'água (*Mesocyclops*; *Macrocylops*) (TEXEIRA et al., 1999).

As estratégias de controle do *A. aegypti* no Brasil têm por base programas que utilizam principalmente inseticidas químicos, onde se destacam os organofosforados e piretróides (LUNA et al., 2004). Embora o uso desses compostos ocasione danos à saúde pública por ser tóxico e poluir o ambiente. Essas substâncias são conhecidas

popularmente por inseticidas, ovicidas (atingem ovos imaturos) e larvicidas (atingem lavas) (FORATTINI, 2002).

Os inseticidas frequentemente utilizados são os organofosforados e piretróides, geralmente durante as epidemias de dengue. No controle de larvas, um dos principais larvicidas usado no país, é o organofosforado temefós (LIMA et al., 2006). Nas áreas infestadas pelo *A. aegypti*, principalmente nas grandes metrópoles, estes programas demandam atividades intensas e contínuas durante todos os dias do ano, com visitas domiciliares (TEIXEIRA et al., 2002).

Os larvicidas empregados no controle químico agem de forma distinta e são classificados de acordo com seu campo de ação, em asfixiantes quando dificultam a respiração das larvas obstruindo os espiráculos; de contato, quando penetram pela superfície corpórea; gástricos quando são ingeridos pelas larvas e absorvidos pelo sistema digestório e inibidores de crescimento, quando interferem nas ecdises ou prejudicam a formação de quitina (FORATTINI, 2002).

O controle do *A. aegypti* encontra inúmeras dificuldades, o ponto de maior relevância é a resistência que o mesmo vem apresentando aos inseticidas empregados em seu controle. A exposição continuada destes produtos provoca uma forte pressão de seleção, de forma que os espécimes mais aptos a resistir podem produzir descendência capaz de sobrepujar a população dos não-resistentes.

3.4 Potencial de utilização de extratos vegetais para o controle de insetos vetores: ênfase ao gênero *Aedes*

Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e outros microorganismos são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. Inúmeras substâncias acumulam-se no vegetal para sua defesa contra microorganismo, algumas delas sendo denominadas de fitoalexinas (GRAYNER; KOKUBUN, 1985). As plantas sintetizam e emitem inúmeros compostos voláteis (ácidos, aldeídos e terpenos) para atração de polinizadores e defesa contra herbívoros (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002).

O controle com extratos e óleos vegetais da flora nacional tem-se apresentado como uma alternativa propícia, pois vem produzindo bons resultados em condições de laboratórios e em campo. Esses produtos são efetivos no controle entomológico

reduzindo as aplicações de inseticidas químicos sintéticos prejudiciais à saúde humana e causadores de desequilíbrios ecológicos (LYRA NETO et al., 1990).

Pimenta et al., (2006) testaram sobre as larvas de *A. aegypti*, o extrato hexânico (EH) que mostrou CL₅₀ igual a 23,99 µg/mL, o extrato metanólico (EM) que não apresentou atividade, e o óleo essencial (OE) dos frutos de *Pterodon olygalaeflorus*, cuja CL₅₀ foi 134,90µg/mL. O 6- α -acetoxivouocapano (**2**) isolado do extrato metanólico também foi testado e mostrou CL₅₀ igual a 186,21 \pm 1,17 µg/mL. Obtendo um percentual de larvas mortas em diferentes concentrações que permitiu determinar para os valores de CL₅₀ melhor atividade frente às larvas de *A. aegypti*, com um valor de CL₅₀ igual a 23,99 \pm µg/mL.

3.4.1. Princípios ativos de origem vegetal com atividade inseticida

Entre as principais plantas com atividade inseticida destacam-se aquelas do gênero *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenóides, *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina (SIMÕES et al., 2004). A nicotina, obtida de espécies de *Nicotiana* foi empregada como inseticida pela primeira vez no final do século XVII na França sob a forma de lavagem de fumo. Esse alcalóide foi isolado em 1828 e foi largamente utilizado no início do século passado. Junto com a nicotina 18 (principal alcalóide do tabaco), foram isolados ainda outros alcalóides com atividade inseticida, a nornicotina e anabasina (VIEIRA ; FERNANDES, 1999).

Do grupo dos rotenóides, a rotenoma 1 é a principal substância com atividade inseticida, ocorrendo principalmente em espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* (timbós), e *Tephrosia* e *Mundulea*. Os rotenóides são obtidos a partir da moagem das raízes secas de plantas com até três anos. Sua atuação pode ser tanto por contato, como por ingestão, interferindo nos mecanismos respiratórios e tendo ainda atividade fago-inibidora (VIEIRA ; FERNANDES, 1999).

As piretrinas são inseticidas naturais produzidos a partir do extrato de flores do gênero *Chrysanthemum*, sendo a espécie mais comum o *Chrysanthemum cinerariifolium*. O piretro é um dos mais antigos inseticidas conhecidos, sendo já utilizado na Mesopotâmia antes da era cristã (LARINA, 1997). Há referências do uso do piretro por volta do ano de 1800, sendo então conhecido como Pó da Pérsia (MARICONI, 1988). As piretrinas são

instáveis a luz solar, razão pela qual foram desenvolvidos seus similares sintéticos (piretróides) que possuem fotoestabilidade (BAIRD, 2002). A azadiractina é um limonóide de ocorrência restrita em duas plantas, *Azadirachta indica*, conhecida na Índia como neem e *Melia azedarach*, também de origem asiática, mas introduzida em vários países, inclusive o Brasil, onde é conhecida como cinamomo ou santabárbara, além de várias outras denominações vulgares. A azadiractina tem grande potencial inseticida, sendo considerada como um inseticida natural (VIEIRA;FERNANDES, 1999).

3.4.2. Produtos de origem vegetal e eficiência de controle

As plantas são grandes fontes de moléculas com ação fagoinibidora, repelente, inseticida, além de substâncias capazes de alterar a regulação do crescimento, tendo como exemplos os piretróides, a rotenona, a nicotina, a quassina e a azadiractina, extraídos das flores do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), das raízes do timbó (*Derris spp.*), das folhas do fumo (*Nicotina spp.*), do caule da quina (*Quassia amara*) e do fruto do nim (*Azadiracta indica*), respectivamente (VIEIRA; FERNANDES,1999).

A *Mormodica charantia*, que apresentaem suas folhas alcalóide mormordicina I, II, III (0,008%) e momordipicrina (0,17%), ácido momórdico, ácido graxo fixos (0,16) (LENZI, 2005), já foi utilizada contra pragas agrícolas com bons resultados. Wanderley Jr. et al. (2000), em condições de laboratórios, obteveram uma mortalidade de 80,51% e 100% de *Aphis cracevora* (pulgão do feijão) por extrato alcoólicos de *M. charantia*, nas diluições de 5% e 10% respectivamente.

Coimbra et al. (2006), avaliaram o efeito nematostático e nematicida de extratos aquosos de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.), folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.) e casca de gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) em *Scutellonema bradys*, agente causal da casca-preta do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.). Todos os extratos vegetais inibiram a mobilidade e causaram mortalidade ao fitonematóide.

Boiça Júnior et al., 2005 testoram efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) em couve, entre estes extratos estava extrato de *Nicotiana tabacum* (folhas) que junto a *Enterolobium contortisilliquum*, *Sapindus saponaria* (frutos) e *Trichilia pallida* (ramos), foram os mais eficientes, causando 100% de mortalidade das larvas de *P. xylostella*, demonstrando o potencial de uso desse extrato para o controle de insetos pragas.

Trabalhos recentes têm demonstrado eficácia dos extratos brutos e seus compostos isolados na refrega contra *A. aegypti*. Furtado et al. (2005) avaliaram atividade larvicida de extratos de óleos essenciais de plantas selecionadas no Ceará: *Vanillosmopsis arborea*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon winterianus*, *Ageratum conyzoides*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum purpurascens*, *Ocimum tenuiflorum*, *T. minuta*, *Citrus limon*, *Ocimum gratissimum*, todas causaram mortalidade larval.

Silva et al. (2004) realizaram estudo fitoquímico sobre atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *A. aegypti* e obtiveram CL₅₀ e CL₉₀ de 3,1 e 36,6 ppm, respectivamente. Geres et al. (2008) analisaram a atividade larvicida de diterpenos de *Copaifera reticulata* Ducke contra o *A. aegypti* verificando-se mortalidade larval considerável.

Prajapati et al. (2005) avaliaram o efeito inibidor da oviposição, a atividade inseticida e repelente de óleos essenciais extraídos de dez plantas medicinais contra *A. aegypti*, concluindo que *Jemiperus macropoda* e *Pinpinella anisum* foram alternante efetivas tanto larvicidas quanto ovicidas. Ainda foi verificado que o óleo essencial de *Zingiber officinales* possui atividade ovicidas, enquanto *Rosmarinus officinales* e *Cinnamomom zeylanicum* possuem efeito repelente, sendo o ultimo o que apresentou o mais alto valor repelente.

Candido (2006) avaliou a atividade larvicida de diferentes extratos sobre os estágios L₁,L₂,L₃ de larva de *A. aegypti* entre os extratos destacou-se o de *Nicotiana tabacum* que apresentou menores CL₅₀ e CL₉₀ que os demais sendo respectivamente de 2,130 ml/L e 84,88 ml/L.

3.5. Métodos e técnicas de produção de extratos vegetais e isolamento e extração de princípios ativos vegetais

Grande parte dos extratos utilizados nas pesquisas é obtida a partir da secagem de diferentes estruturas vegetais, como folhas, flores, frutos, raízes, ramos e sementes. O material seco é então triturado, e do pó são produzidos extratos a partir do uso de solventes como água, éter, álcool ou acetona. Os extratos assim obtidos são filtrados e diluídos, formando diferentes concentrações. Com o uso de solventes orgânicos, ocorre também a etapa de evaporação, após a filtração. Por isso, neste caso, a quantidade de extrato obtida é menor, mas com alto grau de pureza (GALLO et al., 2002).

Existem ainda várias estratégias para determinar a atividade de produtos naturais e fazer o isolamento das substâncias ativas presentes. Pode-se iniciar com extratos brutos da planta, preparados com solventes como hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água. Posteriormente os extratos ativos são fracionados por cromatografia e as frações obtidas são novamente testadas, repetindo-se o processo até obtenção da(s) substância(s) ativa(s) (VIEIRA; FERNANDES, 1999).

Os principais solventes utilizados para obtenção de extratos vegetais têm sido: água, acetona, éter e álcool. Alguns trabalhos têm mostrado diferenças na capacidade de extração por determinados solventes. Roel et al. (2000), ao compararem quatro solventes para obtenção de extratos de *Trichilia pallida*, verificaram que a maior atividade tóxica sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) foi daqueles produzidos com acetona. Hamma et al. (2001) consideram que os extratos aquosos e metanólicos de *M. azedarach* têm praticamente os mesmos efeitos sobre adultos de *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) indicando uma eficiência similar dos solventes na extração dos componentes ativos da planta. No entanto, o uso de extratos aquosos, para obtenção de compostos hidrossolúveis presentes nos vegetais, pode proporcionar um método fácil, natural e econômico de manejo de insetos (HERNÁNDEZ; VENDRAMIM, 1997).

Ultimamente em alguns trabalhos com uso de plantas como inseticida tem-se utilizado a liofilização método de secagem especializado já que muitos produtos perdem a sua viabilidade no estado líquido deteriorando-se rapidamente quando são secos ao ar à pressão atmosférica. Estas matérias podem ser termo-sensíveis ou podem reagir com oxigênio. Assim para serem estabilizados têm que ser desidratados. O material a ser seco é primeiro congelado e depois sujeito, sob vácuo elevado, a calor (fornecido por condução, radiação, ou por ambos) de modo que o líquido congelado sublima deixando um resíduo constituído pelos componentes secos do líquido original. O produto é facilmente redissolvido ou, ressuspenso por adição de água, técnica concedida como reconstituição (LACHMAN et al., 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Bioensaio de Laboratório:

Os testes biológicos de resistência ao inseticida e da atividade inseticida da solução de *N. tabacum* (Fumo), e as criações das populações de *A. aegypti* foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico do Núcleo de Manejo Integrado de Pragas (NCBP) da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), em salas climatizadas a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas (F1). Foi Utilizada a geração recém – eclodida de ovos do campo.



Figura 2 – Salas climatizadas a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas

4.1.1. Obtenção da população de *Aedes aegypti* resistente e suscetível ao temefós:

A pesquisa foi conduzida coletando-se amostras de populações de *A. aegypti* em Campina Grande no bairro Monte Santo. Neste bairro foram instaladas armadilhas (Fig. 2) para coleta de ovos (ovitampas), distribuídas em 40 residências ao acaso. As armadilhas constaram de um balde plástico de cor preta, medindo 30 cm de diâmetro por 15 cm de profundidade, contendo furos a 7,5 cm do fundo, para se evitar o preenchimento total e o transbordamento de água. No interior destas, utilizou-se como substrato de oviposição, palhetas de eucatex de 12 cm de comprimento por 2,5 cm de largura, presas por cliques à parede interna do balde. As armadilhas foram recolhidas quatro dias após a

instalação e, o material coletado foi levado para o laboratório para identificação e estabelecimento das criações.



Figura 3 – Armadilha para coleta de ovos de *Aedes aegypti* do campo

As larvas de *A. aegypti* foram criadas em bandejas plásticas (40 cm x 27 cm x 7,5 cm) cobertas por uma tela de malha fina, ofertando-se a estas, 1,0mg/larva de ração para peixe ornamental (Alcon/Goldfish crescimento). Os adultos foram mantidos em gaiolas construídas de armação de madeira e tecido tipo organza (40 cm x 40 cm x 20 cm de fundo) (Figura 4.B), ofertando-se diariamente, uma solução glicosada de mel a 20%, sendo às fêmeas, permitido o repasto sanguíneo, em codornas, durante uma hora, três vezes por semana. Após a obtenção dos ovos (Figura 4.C), estes foram mantidos em bandejas plásticas com 1/3 de sua capacidade preenchida com água desclorada para a eclosão das larvas (Figura 4.A) (BESERRA et al., 2006 e 2007).



Figura 4 – Seqüência de criação de *Aedes aegypti* em laboratório. A – Bandeja de desenvolvimento larval, B – Gaiola de criação de adultos, C – Recipiente para oviposição.

A população Rockefeller, mantida no laboratório de controle biológico à seis anos sem pressão de seleção, foi tomada como a população suscetível de referência (S).

As verificações e avaliações dos graus de resistência das populações de *A. aegypti* ao larvicida temefós, foram realizadas a partir da dose diagnóstica de 0.352 mg i.a./L determinada a partir dos testes com a população suscetível (S), e de concentrações

múltiplas que proporcionaram mortalidades entre 5% e 99% segundo o que preconiza Organização Mundial de Saúde (OMS) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005), e água como controle. Para cada teste, larvas de 3º estágio tardio (L₃) e/ou 4º estágio jovem (L₄) do vetor foram distribuídas em copos descartáveis de 500 ml contendo 400 ml de cada solução diluída em água destilada, e 25 larvas, repetidas em quatro vezes sendo que após vinte e quatro horas de exposição das larvas ao produto avaliou-se a porcentagem de mortalidade segundo critério da OMS na interpretação do padrão de suscetibilidade: $\geq 98\%$, população suscetível; de 80% a 98%, verificação da resistência; $\leq 80\%$, população resistente.

4.1.2 Análise dos dados:

Dados de mortalidade de cada população foram submetidos à análise de Probit através do programa POLO-PC para cálculo das CL₅₀ e CL₉₀ das populações.

4.1.3 obtenção da solução:

A solução foi produzida no laboratório de farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba, a partir de fumo de rolo (*N. tabacum*) obtido em feira livre do município de Campina Grande (Fig.5). O produto foi seco em estufa a 40°C, por 72 horas e, posteriormente, triturado em moinho, até a obtenção de um pó fino com granulação uniforme. O pó (1kg) foi umedecido com um litro álcool etílico a 70% e depositado no percolador (Fig.5 B) seguindo a metodologia de Prista; Alves (1996) por 24 horas. Após a montagem extraiu-se a solução filtrada e acrescentou-se o solvente (álcool etílico 70%), com 48 horas foi coletada outra fração da solução e acrescentado novamente a concentração alcoólica e por fim coletou-se a última fração da solução após 72 hs da montagem. Esta então foi armazenada em recipiente âmbar e conduzida ao Laboratório de Controle Biológico do Núcleo de Manejo Integrado de Pragas (NCBP) da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB) onde foi submetido a uma temperatura abaixo de 0° para conservação até o momento da execução dos experimentos.



Figura 5– A Fumo de rolo (*Nicotiana tabacum*) obtido em feira livre de Campina Grande, **B** percolador usado para extração

4.1.4 Atividade larvícida de solução de *Nicotiana tabacum*:

Para a detecção da atividade larvícida a solução concentrada acima (item 4.1.3.) foi diluída em água destilada para obtenção de cinco soluções variando de 0,05%(0,2ml/400ml) a 1%(4ml/400ml) e água com 1,0 ml de álcool como controle, para 400ml da solução total. Para cada teste, larvas de 3º estágio tardio (L₃) e/ou 4º estágio jovem (L₄), das populações de *A. aegypti* resistente e suscetível ao temefós, foram distribuídas em copos descartáveis de 500 ml contendo 400 ml de cada solução e 25 larvas, repetidas em quatro vezes, sendo a mortalidade avaliada após vinte e quatro horas de exposição das larvas ao produto, considerando-se como morta aquelas que estavam moribundas ou não respondiam a um toque com um pincel. As doses CL₅₀ e CL₉₀ foram obtidas partir da correção dos dados de mortalidades das concentrações acima citadas submetidos à análise de Probit através do programa POLO-PC.

4.1.5 Efeito ovicida de solução de *Nicotiana tabacum*:

O efeito ovicida da solução de fumo sobre as populações de *A. aegypti* resistente e suscetível ao temefós, foi avaliado a partir das CL₅₀s e CL₉₀s definidas no item 4.1.4. Para cada solução, discos de papel filtro contendo 25 ovos foram imersos por 5 segundos (Fig.4), colocados para secar por 10 minutos e, após, introduzidos em placas de Petri (15,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de profundidade), contendo 150ml de água destilada suficiente para encobrir os ovos, em um total de 5 repetições. Após 24 horas de exposição dos ovos ao produto foram realizadas, diariamente, durante dez dias, a

contagem de larvas eclodidas, considerando-se como inviáveis os ovos que após este período não apresentaram eclosão de larvas.

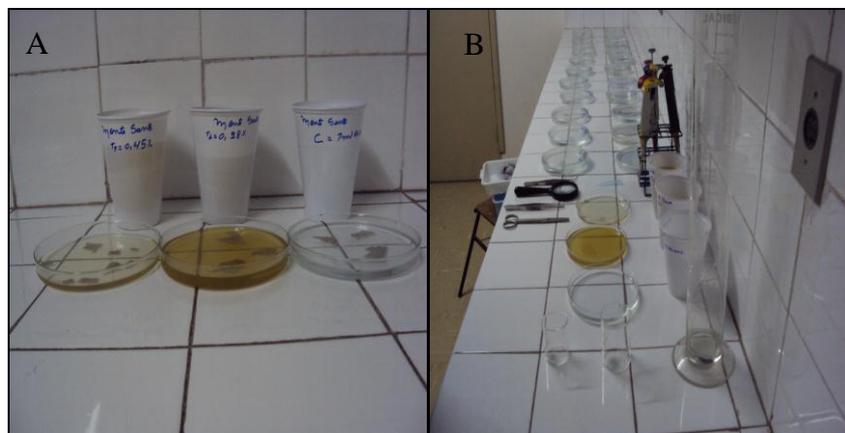


Figura 6- A Ovos expostos as CL90 e CL50 e concentrações letais da solução para populações de campo de susceptível ;**B** Teste ovicida

4.1.6 Efeito da solução de *Nicotina tabacum* sobre pupas de população resistente e suscetível:

Para a detecção da atividade inseticida sobre pupa, a solução concentrada acima (item 4.1.3.) foi diluída em água destilada para se obter as CL₉₀ e CL₅₀ definidas no item 4.1.4 , e água com 1,0 ml de álcool como controle, para 400ml da solução total. Para cada teste das populações de *A. aegypti* resistente e suscetível ao temefós, foram distribuídas em copos descartáveis de 500 ml contendo 400 ml de cada solução e 10 pupas (Fig.7 A) cobertos por uma tela (Fig.7B), repetidas em quatro vezes, sendo a mortalidade avaliada após quarenta e oito horas de exposição considerando como mortas aquelas que não se moviam ao toque de um pincel.

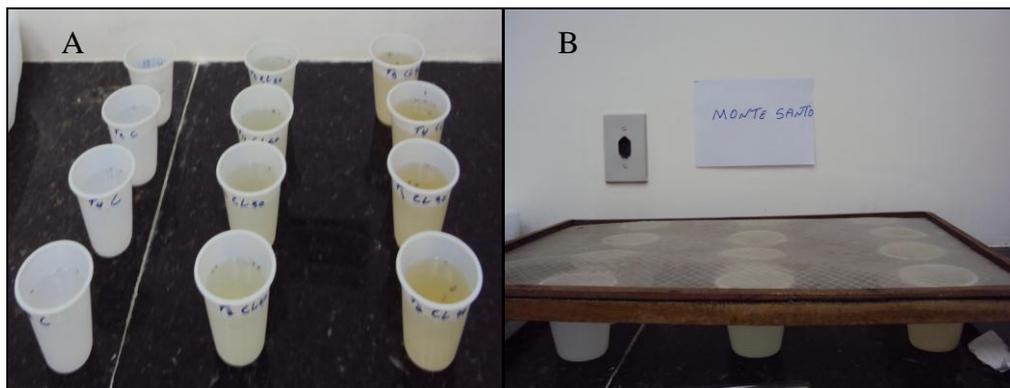


Figura 7- A Teste de inviabilidade de pupa em presença de solução de *N. tabacum* **B** Tela

4.1.7 Análise dos dados:

Dados de mortalidade de larvas itens 4.1.4 e 4.1.6) de cada população, foram submetidos à análise de Probit através do programa POLO-PC e determinadas as CL_{50} e CL_{90} para as populações resistente e suscetível ao temefós (Abatte®).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção da população de *Aedes aegypti* resistente e suscetível ao temefós

Nos testes realizados com a população susceptível de laboratório Rockefeller para a determinação da dose diagnóstica do inseticida temefós a ser aplicada nas populações de campo, aplicou-se concentrações variando de 0.125mg i. a./L a 0.5805 mg i. a./L que causaram mortalidades entre 5% e 99% ,com base nesse resultado chegou-se à dose diagnóstica de 0.352 mg i. a./L que é o dobro da CL₉₀ da Rockefeller (Tabela 1).

Amostras larvais, do bairro Monte Santo, foram submetidas aos testes de resistência com a dose diagnostica 0.352 mg i. a./L, e não ocorreram mortalidades, mostrando ser todas resistentes ao temefós. Assim pode se inferir que há uma alta resistência ao temefós nas populações de Campina Grande, e que esta não é recente na população, como mostra os estudos de Beserra et. al. (2007) que detectaram a resistência a esse lavicida para as populações oriundas do mesmo bairro aqui avaliado. Segundo esses autores, além de Campina Grande, populações de Boqueirão, Brejo dos Santos, Itaporanga e Remígio mostravam-se resistentes ao temefós.

Para a OMS (1976), cepas resistentes a um determinado produto químico podem surgir como resultado de fatores genéticos, biológicos e operacionais. Os fatores genéticos e biológicos são os característicos das populações, como a freqüência e o caráter dominante dos genes de resistência, o isolamento, a endogamia e o potencial reprodutor da população (OMS,1976). Os operacionais estão relacionados ao uso de inseticidas, podendo surgir por pressão seletiva ou a partir de fracassos nas operações de controle (BROGDON; 1998).

Como verificado para Campina Grande, a resistência ao temefós no Brasil, não é um fato recente e já fora detectada por vários autores como Marcoris et al. (1995), Lima et al. (2006) e Macoris et al.(2007).

Em 2006 Lima et al. avaliaram a resistência do *A. aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará (Fortaleza, Juazeiro do Norte, Crato, Barbalha) à dose diagnostica do temefós de 0,012ppm resultou em uma mortalidade máxima de 28%, enquanto que para a população Rockefeller (Colônia Suscetível) exposta a dose diagnostica essa mortalidade foi de 100% .

A ausência de mortalidade encontrada nas populações presentes, refletiu na análise dos dados, não sendo possível à estimativa das CL_{50} e CL_{90} e conseqüentemente não foi possível determinar as suas razões de resistência (RR). Diante da resistência de todas as populações estudadas de Campina Grande, a população Monte Santo foi tomada aleatoriamente para prosseguir o experimento com os testes de atividade larvicida de solução de *Nicotiana tabacum*, efeito de repelência a adultos e efeito ovicida.

Tabela 1. Resposta de concentração(%) mortalidade de *Aedes Aegypti*, população Rockefeller ao Organofosforado Temefós no estágio L3, após 24 horas de exposição. Temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas.

Teste	CL ₅₀ (%) ^a	IC(95%)	CL ₉₀ (%) ^c	IC(95%) ^c	b±EP ^D	(X ²) ^E
1º	0.107	0.090-0.121	0.201	0.184-0.225	4.692±0.581	12.57
2º	0.065	0.014 -0.097	0.140	0.93 -0.173	33.887±0.924	30.9
3º	0.114	0.101-0.128	0.187	0.163-0.226	0,163-0,226	66,79
D. diagnóstica			0,352			

^aCL₅₀: dosagem que mata 50% da amostra; ^bCL₉₀: dosagem que mata 90% da amostra; ^cIC: intervalo de confiança; ^DCoefficiente angular da linha de regreção da análise de Probit ^EX² = qui-quadrado

5.2. Atividade larvicida da solução de *Nicotiana tabacum*

As concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) necessárias para matar 50% e 90% da população de *A. aegypti* resistente ao temefós foi de 0,45% (1,8 ml/400ml de água) e 0,98% (3,92ml/400ml de água) da solução de *N. tabacum*. (tabela 2). Esses resultados diferem dos obtidos por Candido (2006), que para uma população oriunda do Monte Santo, verificaram uma CL_{50} de 2,13 ml/L e CL_{90} de 84,88 ml/L.

Para a população Rockefeller obteve-se uma CL_{50} de 0,12% e CL_{90} de 0,24% (tabela 2), doses menores que as encontradas para a população de campo. Fato esse justificável já que a população Rockefeller é criada em laboratório sem pressão de seleção e mostra-se suscetível ao temefós, o que pode também refletir em uma maior suscetibilidade a outros produtos tóxicos, como a solução de *N. tabacum*.

O nível de atividade larvicida da solução de *Nicotiana tabacum* com 90% e 50% de mortalidade, comprova a eficiência deste extrato no controle o que justifica o interesse econômico e biológico nesta espécie vegetal além de tantas outras já testadas com potencial inseticida. Poncio (2010) avaliou a bioatividade de inseticidas botânicos, entre esses, solução de *N. tabacum* (sob a forma de pó-de-fumo) a 10% sobre crisomelídeos *Microtheca ochroloma* stal, e constatou que o pó-de-fumo se encontra entre os inseticidas botânicos que apresentaram maior mortalidade sobre diferentes fase do desenvolvimento de *M. ochroloma* stal.

Assim é possível perceber a importância das Solanácea como inseticida a ser utilizados para vários grupos de insetos, a exemplo de insetos mastigadores como *Brevicoryne brassicae* e *M. ochroloma* (BRAGA et al., 2004; BASTOS et al., 2009), insetos sugadores de seiva como *Schizaphis graminum*, e *Bemisia tabaci* (SOULE et al 1999), insetos de grãos armazenados como *Tribolium castaneum* e *Sitophilus zeamais* (SALVADORES et al. 2007), além de *A. aegypti* como aqui demonstrado.

O extrato de *N. tabacum* que funciona com um inseticida de contato não persistente e seu modo de ação consiste em mimetizar acetil-colina (ach), quando combinado com o seu receptor ach (ação local) na membrana pós-sináptica que reage com ach, alterando a permeabilidade da junção neuromuscular. a nicotina provoca a geração de novos impulsos nervosos que levam à contração espasmódica, convulsões e, finalmente, a morte (CELIS et al., 2008). Seus princípios ativos mais importantes extraídos das folhas são os alcalóides, a nicotina, a nornicotina e a anabosina (CASTRO; CONFALOMIERI, 2005).

Uma das vantagens no uso de inseticidas vegetais é que a presença de mais de um produto ativo reduz a possibilidade de desenvolvimento de resistência pelos insetos (GALLO et al. 2002). Segundo Roel (2002) o uso desse vegetal como fitoterápico, também é respaldado pela sua composição química variada e complexa, que retarda o desenvolvimento de resistência pelos parasitas.

Assim o numero de trabalhos realizados com o uso de testes lavicidas de extratos vegetais tem sido elevado, pois mostra-se uma boa alternativa no controle de vetores. Estudos conduzidos por Nogueira; Barci et al. (2003), com formulação feita com decocto de fumo em corda a 5% mais cal virgem a 1,25%, usadas nas concentrações de 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,5%, além do controle, demonstraram eficácia de 100,0; 99,0; 96,5; 33,0; 5,5; 1,5; 0,5 e 0,65% no controle de larvas de carrapato bovino, não sendo observada diferença ($P>0,05$) entre os tempos de avaliação (24, 48 e 72 horas pós-tratamento) quanto à mortalidade das larvas mostrando-se eficiente.

Tabela 2. Resposta de concentração(%) mortalidade de *Aedes aegypti*, população Monte Santo e Rockefeller, ao extrato vegetal *Nicotiana tabacum*, no estágio L3, após 24 horas de exposição. Temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas.

População	CL ₅₀ (%) ^A	IC(95%) ^C	CL ₉₀ (%) ^B	IC(95%) ^C	b±EP ^D	(X ²) ^E
Monte Santo	0,450	415-487	0,979	878-1.123	3.800±.276	17.6
Rockefeller	0,113	105 -122	0,245	214 -301	3.834±432	8.07

^ACL₅₀: dosagem que mata 50% da amostra; ^BCL₉₀: dosagem que mata 90% da amostra; ^CIC: intervalo de confiança; ^DCoeficiente angular da linha de regreção da análise de Probit ^EX² = qui-quadrado

5.4. Efeito ovicida de solução de *N. tabacum*

A mortalidade ocasionada na fase de ovo para a população suscetível foi baixa, de 0,75% para a CL₅₀, e de 0,12% para o controle, já para a CL₉₀ de 0,25% não obteve-se mortalidade (Fig.8).

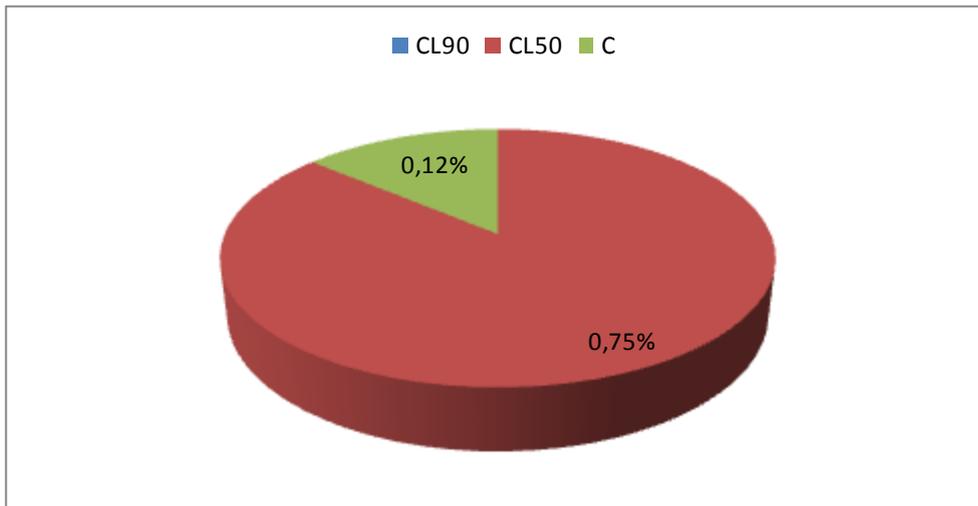


Figura 8: Inviabilidade de ovos de população Rockfeller exposta as CL₅₀, CL₉₀ e Controle da solução de *Nicotiana tabacum*

Para a população resistente, a porcentagem de mortalidade do embrião foi de 7,25% quando se aplicou a CL₅₀ de 0,45%; de 5% para a CL₉₀ de 0,98% e de 7% para o controle (Fig.9).

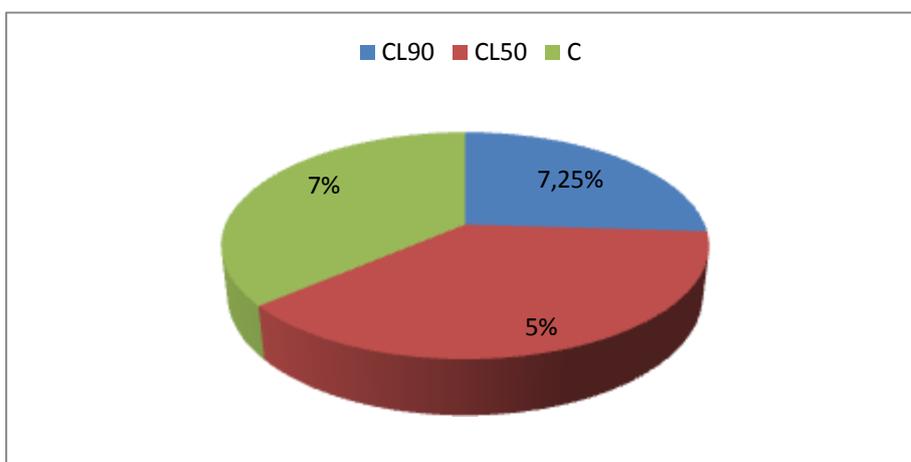


Figura 9: Inviabilidade de ovos de população Monte Santo exposta as CL₅₀, CL₉₀ e Controle da solução de *Nicotiana tabacum*

O fato de que o ovo apresenta morfologia bem mais resistente que larvas, justifica os resultados obtidos para a baixa mortalidade quando aplicadas CL_{50} e CL_{90} larvais.

Consoli;Oliveira (1994) descrevem os ovos de mosquitos como sendo envolvidos por uma casca composta de 3 camadas: a fina membrana vitelina interna, que envolve o núcleo, o citoplasma e o vitelo, o endocório endurecido e grosso e o exocório fino e transparente que constitui o envoltório externo. O embrião depende da estrutura e das propriedades da casca para a sua proteção mecânica, passagem de gases respiratórios e resistência à perda de água. Corroborando, Neves (2005) descreve que os ovos são muito resistentes à dessecação, podendo permanecer viáveis por mais de um ano. Essa resistência tem-se apresentado como um dos principais obstáculos para o controle do *A. aegypti*, pois é ela que possibilita a dispersão passiva da espécie. E talvez essa estrutura atue como uma barreira física a penetração de substâncias, como por exemplo o extrato aqui utilizado.

Além disso, existem fatores genéticos e bioquímicos que favorecem esse mecanismo de resistência, como a formação de uma cutícula serosa constituída por quitina e a existência de expressão gênica relacionada tanto com a produção de quitina quanto de lipídeos importantes para o processo de impermeabilização (REZENDE et al., 2008).

Por outro lado, há estudos que evidenciam a atividade ovicida de muitos extratos. Coria et al. (2007) analisaram o efeito dos extratos obtidos das folhas e dos frutos da *M. azedarach* sobre o *A. aegypti* e verificaram uma atividade tanto larvicida quanto ovicida. Pereira et al., (2009) avaliaram efeito ovicida e larvicida do extrato de *Azadirachta indica* sobre mosquito *A. aegypti* em relação a ação ovicida foi observado retardo no desenvolvimento em relação ao grupo controle o número de eclosão, após um período de exposição de 48 horas.

Diante da carência em pesquisas do uso de extratos vegetais contra ovos de *A. aegypti*, é de grande importância buscar meios alternativos mais eficazes que os inseticidas químicos e que sejam viáveis para o uso pelos órgãos públicos em residências. Tornando-se possível a análise de dosagens maiores da solução de *N. tabacum* para se obter um efeito ovicida de maneira não degradável ao meio ambiente e saúde humana.

5.5 Efeito da solução de *Nicotina tabacum* sobre viabilidade pupal de população resistente e suscetível:

Não ocorreu mortalidade, tanto na população suscetível como na resistente, após 24 e 48 horas de aplicação das CL_{50} e CL_{90} . Este resultado pode ser justificado devido à morfologia e comportamento das pupas, que é um estágio de transição entre larvas e adultos, entre o meio aquático e o terrestre (FORATTINI, 2002) que não se alimentam, impedindo a absorção de produtos tóxicos, já que a maioria dos larvicidas é absorvida pelo tubo digestório.

Ainda é pequeno o número de trabalhos publicados sobre a utilização de extratos vegetais com ação inseticida contra pupas de *A. aegypti*. Murugan et al (2007) demonstraram a ação pupicida sobre *A. aegypti* com *Albizzia*. Moraes; Pereira (2009) avaliaram a mortalidade de pupa de *A. aegypti* em presença de extrato de *Annona coriacea* diluído em concentrações de 400 e 500 ppm testadas após 48 horas de exposição ($p < 0,05$). A ação pupicida foi evidente, apresentando mortalidade de 45,0% e 62,5% em 400 e 500 ppm, respectivamente.

Rocha (2008) obtiveram resultados que confirmam as propriedades insecticidas da do extrato de *Thevetia peruviana* que exibiram elevado efeito larvicida ($CL_{50}=0,13$ mg/ml, $CL_{90}=0,94$ mg/ml) e pupicida ($CL_{50}=0,06$ mg/ml, $CL_{90}=0,12$ mg/ml) ao fim de 48 horas.

6. CONCLUSÃO

De acordo com a pesquisa realizada conclui-se que:

- *Nicotiana tabacum* apresenta potencial para ser utilizado como larvicida para populações resistente (CL_{50} de 0,45% e CL_{90} de 0,98%) e suscetível (CL_{50} de 0,113% e CL_{90} de 0,245%) de *A. aegypti*;
- O extrato de *N. tabacum* não apresentou potencial inseticida, para as mesmas concentrações larvicida, contra ovos e pupas de populações de *A. aegypti* susceptível e resistente ao temefós;

7.0 REFERÊNCIAS

ABOU-FAKHR HAMMAD, E.M.et al .Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Hom. Aleyrodidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 125, p. 483-488, 2001.

ABOTT, W. S. A mthod of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.

ACIOLE, S. D. G. Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Mestrado em Biologia Humana e Ambiente**, Universidade de Lisboa faculdade de ciências departamento de biologia animal ,2009.

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.

AVANCINI, C.A.M. **Sanidade animal em agroecologia**. Porto Alegre: Fundação Gaia, p.38,1994.

BAGLINI, V. et al. Atividades de controle do dengue na visão de seus agentes e da população atendida, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.21, n.4, p.1142-1152, 2005. Disponível em:http://www.cbpv.com.br/rbpv/documentos/1832009/rbpv_v18n3_a11.pdf. Acesso em: 10 de fev. 2008.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, p.316-345, 2002.

BASTOS, S et al. Action of plants extracts on oviposition and on mortality of diamondback moth. **Ciencia Rural**. v.39, p.551-554, 2009.

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, p. 853-860, 2006. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2008000100012&lang=en> . Acesso em: 20 de jan. 2009.

BESERRA, E. B. et al. Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v, 36, n. 2. p. 303- 307, 2007. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-566X2007000200019&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em: 20 jan.2009.

BESERRA, E. B. CASTRO-JÚNIOR, F. P. Biologia Comparada de Populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 37,p. 081-085, 2008. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/ne/v37n1/a12v37n1.pdf>. Acesso em: 20 de jun. 2008.

BISSET J. A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. **Revista Cubana de Medicina Tropical** , v.54, n.3, p.202-219,2002.

BOIÇA JÚNIOR, A.L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico** v.72 n.1, p.45-50.2005.

BORGES, L. J. Qualidade Microbiológica de Empadão Goiano Comercializado em uma FEIRA de Lazer de Goiânia/GO e Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana de Cepas Isoladas. Dissertação (mestrado).**Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical** .Universidade Federal de Goiás: Goiânia, p.119,1999.

BROGDON WG, MCALLISTER JC. Simplification of adult mosquito bioassays through use time-mortality determinations in glass bottles. **J Am Mosquito Control Assoc** v.14, p.59-164,1998.

BRAGA, P., GOETZE, M. Y HERMES, G. Efeito de extratos de plantas silvestres da família *Solanaceae* sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Ciencia Rural**. v.34, p. 971-978, 2004.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde** v.16, n.4, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Nota técnica / situação epidemiológica da dengue05/2008**.Disponível em:<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_dengue_mai2008.pdf>. Acesso em outubro de 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde.Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Dados e indicadores selecionados**. Brasília, 2007, Disponível

em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/indicadores_vig_ambiental_2007.pdf>, acesso em: junho 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Informe Epidemiológico da Dengue**, Janeiro a Abril de 2008< http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_dengue_maio2008.pdf> acesso em: 23 janeiro 2009.

BRASIL. Ministério da saúde.Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Informe Epidemiológico da Dengue Semanas de 1 a 52 de 2009**.Brasília:.Disponível em:< http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_epidemiologico_semana_1a52_09_revisado.pdf> acesso em: 22 janeiro 2010.

BRASIL. Ministerio da saúde.Secretaria de Vigilância em Saúde.**Informe Epidemiológico da Dengue Análise de situação e tendências – 2010**.Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_da_dengue_ate_a_semana9.pdf>. Acesso em: junho de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Informe Epidemiológico da Dengue: Análise de situação e tendências - 2010**< http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_da_dengue_ate_a_semana9.pdf> acesso em: 18 novembro 2010.

BUENO, O. C. Plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras. **Rev. Agroecologia Hoje**, v. 28, p.20-22, 2005.

BURG, I.C.; MAYER, P.H. **Prevenção e controle de pragas e doenças**. Francisco Beltrão, Paraná: Grafit, p. 154, 2000.

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, Lafayette Pereira. Avaliação de extratos vegetais para o controle de *Aedes (Stegomyia) aegypti*(L,1762). In:**Monografia**. Universidade Estadual da Paraíba,2006.

CASTRO, J.S.M.; CONFALOMIERI, U. Uso de agrotóxicos no município de Cachoeiras de Macacu (RJ). **Ciência Saúde Coletiva**, v.10, n.2, 2005.

CARVALHO, M. S. L. et al. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, 2004.

CELIS, A. et al. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperácea. Una Revisión. *Agronomía Colombiana*. v26, p. 97-106,2008.

COELHO, A. A. M. et al. Atividade Larvicida de Extratos de Vegetais Sobre *Aedes Aegypti*(L.)(Culicidae), em Condições de Laboratório. *BioAssay*, v.4,n.3,2009. Disponível em:<<http://www.bioassay.org.br/ojs/index.php/bioassay/article/viewFile/22/56>>. acesso em:20 set.2009.

COIMBRA, J. L. et al. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesq. Agropec. Bras.** v.41, n.7, 2006.

CONSOLI, R. A. G. B.; R, O. Lourenço-de-Oliveira. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, Fiocruz, p.225, 1994.

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

ELLIOT, M. et al. The pyrethrins and related compounds. Alkoxyiminosubstituted ester. **Pestic. Sci.** v.22, n.3, p.231-249, 1998.

FARNESI, L. C.; MARTINS, A. J.; VALLE, D. & REZENDE, G. L. Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.1, p.124-126, 2009.

FERNANDES, C. R. M. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v.35 n.6, 2006.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo : Edusp, 2002.

FORATTINI, O. P.; BRITO, M. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. **Rev. de Saúde Pública**. v. 6, p. 6-7,2003.

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

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Ministério da Saúde. Instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. PEAA. Brasília (DF); p. 82, 1997.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (BR). Coordenação Regional de Pernambuco. Relatório de situação das atividades de epidemiologia, sistema de informação e entomologia relacionadas ao PEAA, no estado de Pernambuco. Recife. A Fundação; 2001.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; ANDRADE NETO, M; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v.34, p. 843-847, 2005.

LAGUNES, T.; RODRÍGUEZ H.; Plantas con propiedades insecticidas: resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados. **Agroproductividad**, v. 1, p. 17 – 25,1992.

GALLO, D., O. et al., Omoto. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, FEALQ, p.920,2002.

GERES, Regina et al. *Diterpenos de Copaifera reticulata Ducke com atividade larvicida contra Aedes aegypti (L.) (Diptera, Culicidae)*. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo** v.50, n.1, 2008.

GRAYNER, R. J.;KOKUBUN,T.;**Phytochemistry** 2001,v.56,p.253, 1985.
GUIRADO,M.M.;BICUDO,H.E.M.C.,. Alguns Aspectos do Controle Populacional e da Resistência a Inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Bepa** , v.6,n.64,p.5-14,2009.

GUZMÁN,M. G.; KOURI,G. Dengue diagnosis, advencis and challenges. **Internacional Society for Infectous Diseases** , v.8, p. 371-391, 2000.

HALSTEAD, S. B. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ?. **Rev Panam Salud Publica**, n20, P.407-416, 2006.

HERNÁNDEZ, C. R., VERDRAMIM, J. D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda*. **Revista de Agrucultura**, v.72, p.305-318,1997.

LACHMAN, LEON et al. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. 1ªed. Editora: Fundação Calouste Gulbenkian , p.107-111, 2001.

LAGUNES, T.; RODRÍGUEZ H.; Plantas con propiedades insecticidas: resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados. **Agroproductividad**, v. 1, p. 17-25,1992.

LARINI, L. **Toxicologia**. São Paulo: Editora Manole, p.152-153, 301p, 1997.

LENZI, M.; O., A.; G.T M. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), em Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, v.28, n.3, p.505-313, jul.-set. 2005.

LIMA, E.P.et al. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, 2006.

LIRA NETO et al. **Workhop sobre Produtos Naturais no Controle de Pragas**. Jaquariúna, 1990.

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

MACIEL I. Avaliação epidemiológica do dengue no município de Goiânia no período de 1994 a 1999. **Atualização**. v. 37 n2,p. 111-130, 2008

MACORIS,MLG et al.Modificação da suscibilidade de Aedes(*Stegomia*)aegypti ao temefós.**Rev. Pathol. Trop.** v.24,p.31-40,1995.

MAHMOOD S. Dengue: an epidemic is larged a failure in public health administration! The Role of Dhaka City Corporation, DCC of Bangladesh. **World Health & Population**, 2006.

MARICONI, F. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. São Paulo: Ed. Nobel, p.126-129, 412p, 1988.

MARDERLEY, J. S. et al. Mortalidade do Pulgão preto do feijoeiro por extrato alcoólico do Melão de São Caetano (*Mormodica charantia*) no Agreste Paraibano.In:Congresso Brasileiro de Defensivos agrícolas naturais. **Anais**,Fortaleza, p.23,2000.

MATSUMURA, F. Naturally occurring botanical insecticides. In: MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. London: Plenum, p. 134-139, 1976.

MEDRONHO, Roberto de Andrade. Dengue no Brasil: desafios para o seu controle. *Cad. Saúde Pública* [online], v.24, n.5, p. 948-949, 2008. Disponível em: <
http://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102-311X2008000500001&script=sci_arttext&lng=e>, acesso em: 05 de julho de 2009.

MORAES, J. M. de; PEREIRA, MÔNICA J. B. Bioatividade de extratos de *Annona coriácea* sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). In: II EXPOVIGI: 2ª Exposição de Vigilância em Saúde de Mato Grosso e III Mostra Estadual de saúde da Família/ Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso. **Anais**. Cuiabá: Secretaria de Estado da Saúde, p.125, 2009.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

NOGUEIRA, R. M. et al. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.96, p. 925-926, 2001.

NOGUEIRA, R. M. P. et al. Dengue Viruses in Brazil. **Dengue Bulletin** v.26, p.77-83, 2002.

NOGUEIRA, A.H.C.; BARCI, L.A.G. Avaliação da atividade acaricida do fumo de corda associado à cal virgem no controle de larvas de *Boophilus microplus* em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, supl.3, p.3, 2003.

NOGUEIRA, S. A. O desafio do diagnóstico da dengue em crianças. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. 3, 2005.

Organizacion Mundial de la Salud. Resistencia de vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas. Informe del Comité de Expertos de la OMS en Insecticidas. Ginebra; 1976. (OMS - Serie de Informes Tecnicos, 585).

Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos. Resistencia de vectores de enfermedades a los plaguicidas (15o Informe del Comité de Expertos de la OMSj en Biología de los Vectores y Lucha Antivetctorial), p.818, 1992.

Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington, DC: OPS; 2004.

OSANAI, C.H. et al. Dengue outbreak in Boa Vista, Roraima. Preliminary report. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, n.25, p.53-54, 1983.

PAMPLONA, L.G.C. et al. Avaliação do impacto na infestação por *Aedes aegypti* em tanques de cimento do Município de Canindé, Ceará, Brasil, após a utilização do peixe *Betta splendens* como alternativa de controle biológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, 2004.

PARAIBA.Secretaria do Estado de saúde da Paraíba. **Boletim epidemiológico da dengue**. Ano 2 – Nº 4 – 16 de Junho de 2009. Disponível em:<
<http://www.saude.pb.gov.br/site/nota/ParaibaPDF.pdf>>, acesso em:Junho de 2009.

PARAIBA.Secretaria do Estado de saúde da Paraíba.**Boletim epidemiológico da dengue**. Ano II – Nº 1 – 08 de Junho 2010. Disponível em:<
http://www.saude.pb.gov.br/site/arquivos/Boletim_N.pdf>, acesso em:Junho de 2010.

PESSANHA, J. E. M. et al. A soroprevalência da dengue no município de Belo Horizonte, MG.In: **Anais do V Congresso Brasileiro de Epidemiologia**; 2002. Curitiba.Disponível em:<
<http://www.scielosp.org/scieloOrg/php/similar.php?text=A%20soropreval%C3%Aancia%20da%20dengue%20no%20munic%C3%ADpio%20de%20Belo%20Horizonte,%20MG%20Anais%20do&lang=en>>, Acesso em:04 de junho de 2009.

PEREIRA, A. V. Efeito ovicida e larvicida do extrato de *Azadirachta indica* sobre mosquito *Aedes aegypti*. **Agropecuária Técnica**, v. 30, n. 2, p. 107–111, 2009.

PICHERKSY, E.; GERSHENZON, J.; Curr. Opin. **Plant Biology**, v.5, p.237, 2002.

PIMENTA, A. T. et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade larvicida de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, 2006.

PINHEIRO, F.; NELSON, M. Re-emergence of dengue and emergence of dengue haemorrhagic fever in the Americas. **Dengue Bulletin**, v.21, p. 16-24, 1997.

PRAJAPATI, V. et al. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quiquefasciatus*. **Bioresource Technology**, v.96, p.1749-1757, 2005.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.M. Tecnologia farmacêutica. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Guldenkian, 1996, p.1065-1078, 1996.

POLANCZYK, R. A. et al. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**. v.37,n.6,2003.

PONCIO, Sonia. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Microtheca ochroloma* Stal (Coleóptera:Chrysomelidae)**.2010. dissertação(Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria,2010. Disponível em:< http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=3184>, Acesso em: Junho de 2010.

PUGACHEV, K. V. et al. Traditional and novel approaches to flavivirus vaccines. **International Journal for Parasitology**, v.33,p. 567-582, 2003.

REZENDE, G. L. et al. Embryonic desiccation resistance in *Aedes aegypti*: presumptive role of the chitinized serosal cuticle. **BMC Developmental Biology** 8: 82, 2008.

ROCHA, DIARA K. Importância das Plantas Aromáticas Medicinais nas Novas Estratégias de Controlo de Vetores da Malaria.In: **Workshop Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos**. IICT /CCCM, 29, 30 e 31 de Outubro de 2008.Disponível em:< http://www2.iict.pt/archive/doc/O_Matos_wrkshp_plts_medic.pdf>, aceso em: 29 de novembro de 2010.

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**, vol.29, n.4, 2000.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, n.2, p.43-50, 2002.

ROSE RI. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. **Emerging Infectious Diseases**,v.7,n.1,p.17-23,2001.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª ed. Editora Roca. São Paulo, p.1029,1996.

SALVADORES, U. Y., SILVA, A., G., TAPIA V., M. Y HEPP G., R. Polvos de especias aromáticas para el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en trigo almacenado. **Agricultura técnica (Chile)**,v.67p.147-154, 2007.

SILVA, H. H. G. et al. Metodologia de criação, manutenção de adulto e estocagem de ovos de *Aedes aegypti*(Linnaeus, 1762) em laboratório. **Rev. Patol. Trop.** v.27, p.53-63, 1998.

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

SILVA, H.H.G.; GERIS, R.; RODRIGUES FILHO, E.; ROCHA, C. & SILVA, I.G. - Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae, Caesalpinoidea) against *Aedes aegypti*. **Rev. Soc. bras. Med. trop.**, **40**: 264-267, 2007.

SILVA,S. J. et al. A Dengue no Brasil e as Políticas de Combate ao *Aedes aegypti*: da Tentativa de Erradicação às Políticas de Controle. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**.v.3, n.6, p.163-175, 2008.

SIMAS et al. Potential use of Piper nigrum ethanol extract against pyrethroid resistant *Aedes aegypti* larvae. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 405- 407, 2007.

SIMOES, C. M. O. et al.**Farmacognosia: da planta ao medicamento**.5ªed. São Paulo: editora UFNGS , p.906-911, 2004.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. B. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. **Emerg Infect Dis**, v.11, p. 48-53, 2005.

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.

SOULE, S., GUNTNER, et al. Effect of *Solanum* glycosides on the aphid *Schizaphis graminum*. *Journal of Chemical Ecology*. v.25, p.369-374, 1999.

TAUIL, Pedro Luiz. Urbanização e ecologia do dengue. **Cad. Saúde Pública** [online], v.17, p. 99-102,2001.Disponível em:<

[tp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000700018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000700018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt), Acesso em:22 de janeiro de 2010

TAUIL, PEDRO LUIZ. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil: Critical aspects of dengue control in Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.18, n.3, p.867-871, 2002.

TEIXEIRA, M. G., BARRETO; LIMA, M. e GUERRA, Z.. Epidemiologia e medidas de prevenção do Dengue. **Inf. Epidemiol. Sus, dez.**, v.8, n.4, p.5-33,1999.

TEIXEIRA, M. G., et al. Epidemiologia e medidas de prevenção do Dengue. **Inf. Epidemiol. Sus.** [online]. dez. 2005, vol.8, no.4, p.5-33. Disponível em: http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-16731999000400002&lng=pt&nrm=iso, acesso em: 26 fevereiro 2009.

TEIXEIRA, M. G. Controle do dengue: importância da articulação de conhecimentos transdisciplinares. **Comunicação Saúde Educação** v.12, n.25, p.442-51, 2008.

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.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas inseticidas. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 1ª Ed. Porto Alegre/ Florianópolis:Editora da UFRGS/editora da UFSC,p.739-754, 1999.

VIEIRA, P. C. & FERNANDES, J. B. **Plantas Inseticidas**. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.739-754, 821p, 1999.

WANDERLEY, Walmir Lima et al. Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em Substituição à Silagem de Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na Alimentação de Vacas Leiteiras. **Rev. Bras. Zootec.** v.31, n.1, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue bulletin: Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever:A global public health problem in the 21st century, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue bulletin: Situation of dengue/dengue haemorrhagic fever in SEA countries, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue net**. Disponível em:
<<http://www.who.int/globalatlas/DataQuery/default.asp>>. Acesso em: 1º out. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides: Communicable disease control, prevention and eradication. **Who pesticide evaluation scheme**. Geneva. 2005.