

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia

LEILANE MARINA MORAIS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEMENTES
DE *Syagrus coronata* (Martius) Beccari (ARECACEAE: ARECOIDEAE)
PARA CONTROLE DO *Aedes aegypti***

**Recife
2016**

LEILANE MARINA MORAIS DOS SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEMENTES DE
Syagrus coronata (Martius) Beccari (ARECACEAE: ARECOIDEAE) PARA
CONTROLE DO *Aedes aegypti*

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das
exigências para obtenção do
título de Mestre em
Bioquímica e Fisiologia pela
Universidade Federal de
Pernambuco

Recife
2016

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Santos, Leilane Marina Moraes dos

Avaliação do potencial de óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Martius) Beccari (Arecaceae: Arecoideae) para controle do *Aedes aegypti* / Leilane Marina Moraes dos Santos. – Recife, 2016.

67 f.: il.

Orientadores: Thiago Henrique Napoleão

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, 2016.

Inclui referências

1. *Aedes aegypti*
 2. Arboviroses
 3. Ácidos graxos
- I. Napoleão, Thiago Henrique (orient.) III. Título.

595.772

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-383

LEILANE MARINA MORAIS DOS SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEMENTES DE
Syagrus coronata (Martius) Beccari (ARECACEAE: ARECOIDEAE) PARA
CONTROLE DO *Aedes aegypti*

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das
exigências para obtenção do
título de Mestre em
Bioquímica e Fisiologia pela
Universidade Federal de
Pernambuco

Aprovada em: 21/07/2016

Banca Examinadora:

Dr. Thiago Henrique Napoleão (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Nataly Diniz de Lima Santos (Titular Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Afonso Cordeiro Agra Neto (Titular Externo)
Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Recife

Dra. Thâmarah de Albuquerque Lima (Titular Externo)

Dedico a minha mãe Nadir por sempre estar ao
meu lado em todas as minhas escolhas
e ao meu pai Mário por me apoiar sempre em
meus estudos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que com todo seu amor incondicional fez o universo conspirar para que tudo isso ocorresse.

Aos meus pais, pelo apoio e pelo esforço para que tudo desse certo e que abdicaram de tantas coisas por mim.

Ao meu irmão, pelos momentos divertidos de alívio de estresse quando as coisas complicavam.

Ao Professor e Orientador Dr. Thiago Napoleão pela orientação estupenda. Pelo respeito, pelo apoio ao meu trabalho e pelo companheirismo.

À Professora e Coorientadora Dra. Márcia Vanusa, por me abrir os caminhos todos estes anos no Departamento de Bioquímica.

À professora Dra. Daniela Navarro, por abrir espaço no laboratório e me ajudar nos experimentos estes anos todos que trabalho no Laboratório de Ecologia Química.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Química e Produtos Naturais que me ajudaram no desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do mestrado, pelo apoio e parceria nos momentos de dificuldade.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsa de Mestrado

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia que contribuíram para o meu aprendizado durante o mestrado.

Aos colegas e familiares que mesmo longe sempre vibravam para que tudo desse certo.

Gratidão imensa a todos!

“A natureza reservou para si tanta liberdade que não a
podemos nunca penetrar completamente com nosso saber e
a nossa ciência”

Johann Goethe

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é vetor dos agentes causadores da dengue, chikungunya, febre amarela e febre do vírus zika, doenças que apresentam grande impacto a nível mundial. Atualmente, há vacina disponível apenas contra a febre amarela. Dessa forma, as principais alternativas para controle das demais doenças são as estratégias de controle químico e biológico da população do vetor, e o uso de repelente visando à prevenção da picada do mosquito. Diversos compostos sintéticos têm sido utilizados para controlar populações de *A. aegypti*; contudo, esses inseticidas têm se mostrado danosos ao meio ambiente e à saúde humana. Adicionalmente, existem diversos relatos de populações do mosquito resistente a esses inseticidas. Moléculas de origem natural têm sido investigadas como alternativas para substituição desses inseticidas, já que são biodegradáveis geralmente causam menor impacto ambiental. Os óleos essenciais são misturas complexas formadas pelo metabolismo secundário de algumas plantas. As propriedades inseticidas de óleos essenciais têm sido descritas em vários estudos, inclusive contra *A. aegypti*. *Syagrus coronata* (ouricuri) é uma planta de importância econômica, presente na região semiárida do Nordeste brasileiro. A presente dissertação avaliou o potencial do óleo essencial extraído de sementes de *S. coronata* para o controle de *Aedes aegypti*. O óleo foi extraído por meio da técnica de hidrodestilação e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). O óleo essencial foi avaliado quanto às atividades larvicida e ovicida; e quanto à influência sobre a escolha do sítio de oviposição. Foi investigado também o efeito do óleo sobre a natação das larvas, em condições sub-letais. A atividade larvicida e o efeito sobre a oviposição do ácido octanóico (um dos componentes majoritários) foram determinados. A extração do óleo apresentou um rendimento de 0,41% e a análise por GC-MS revelou que 98,42% da composição do óleo corresponderam aos seguintes ácidos graxos: ácido octanóico (40,55%), ácido decanóico (17,39%) e ácido dodecanóico (40,48%). O óleo de sementes de *S. coronata* promoveu a morte de larvas de *A. aegypti*, com CL₅₀ de 21,07 ppm (48 horas de exposição), mas não apresentou ação ovicida. Os ácidos octanóico, decanóico e dodecanóico apresentaram atividade larvicida com CL₅₀ de 51,78 ppm, 24,01 e 19,72 ppm, respectivamente. No teste de natação, não foram observadas diferenças significativas nas distâncias percorridas por larvas incubadas durante 30 minutos ou 24 horas com o óleo e por larvas do grupo controle. O óleo de *S. coronata* (50 ppm) apresentou efeito deterrente sobre a oviposição, assim como o ácido octanóico na mesma concentração. Na literatura, é descrito que o ácido decanóico também apresenta efeito deterrente, enquanto o ácido dodecanóico tem efeito estimulante sobre a oviposição. Em conclusão, o óleo essencial de sementes de *S. coronata* foi capaz de promover morte de larvas de *A. aegypti* e exercer efeito deterrente sobre as fêmeas grávidas. A atividade larvicida está relacionada a um efeito sinérgico entre os componentes do óleo e o efeito deterrente de oviposição está provavelmente ligado à presença dos ácidos octanóico e decanóico, que correspondem a 57,94% da composição do óleo extraído.

Palavras-chave: Ouricuri. Larvicida. Ovicida. Oviposição. Ácidos graxos. Ácido octanóico.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the vector of the causative agents of dengue, chikungunya, yellow fever and zika fever, diseases that have a great impact worldwide. Currently, vaccine is available only against yellow fever. Thus, the main alternatives for control of the other diseases are chemical and biological strategies for control of the vector population and the use of repellent for the prevention of mosquito bites. Several synthetic compounds have been used to control *A. aegypti* populations; however, these insecticides have been shown to be harmful to the environment and human health. Additionally, there are several reports of mosquito populations resistant to these insecticides. Molecules of natural origin have been investigated as alternatives to replace these pesticides, since they are biodegradable and generally cause less environmental impact. Essential oils are complex mixtures formed by the secondary metabolism of some plants. The insecticidal properties of essential oils have been described in several studies, including against *A. aegypti*. *Syagrus coronata* (ouricuri) is a plant with economic importance, present in the semiarid region of Northeast, Brazil. This work evaluated the potential of the essential oil extracted from *S. coronata* seeds for the control of *A. aegypti*. The oil was extracted by hydrodistillation technique and characterized by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The essential oil was evaluated for larvicidal and ovicidal activities, as well as for influence on the choice of oviposition site. It was also investigated the effect of the oil on the swimming activity of larvae in sub-lethal conditions. The larvicidal activity and the effect on oviposition of the octanoic acid (one of the major components) were determined. The oil extraction showed a yield of 0.41% and GC-MS revealed that 98.42% of the oil composition corresponded to the following fatty acids: octanoic acid (40.55%), decanoic acid (17.39 %) and dodecanoic acid (40.48%). *S. coronata* seed oil promoted the killing of *A. aegypti* larvae, with LC₅₀ of 21.07 ppm (48-h exposure), but had no ovicidal action. The octanoic, decanoic and dodecanoic acids showed larvicidal activity with LC₅₀ of 51.78, 24.01 and 19.72 ppm, respectively. This result indicates that other compounds present in the oil are also responsible for the larvicidal effect. In the swimming test, no significant differences were observed in the distances covered by larvae incubated for 30 min or 24 h with the oil and larvae from the control group. The *S. coronata* oil and the octanoic acid (both at 50 ppm) showed a deterrent effect on oviposition. In the literature, it is described that the decanoic acid also has a deterrent effect while the dodecanoic acid has a stimulant effect on oviposition. In conclusion, the essential oil of *S. coronata* seed was able to promote death of larvae of *A. aegypti* and exerted a deterrent effect on pregnant females. The larvicidal activity is related to a synergistic effect between oil components and the oviposition deterrent effect is probably linked to the presence of octanoic and decanoic acid, which correspond to 57.94% of the oil composition.

Keywords: Ouricuri. Larvicidal activity. Ovicidal activity. Oviposition. Fatty acids. Octanoic Acid.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<u>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</u>	
Figura 1: Representação esquemática de um mosquito macho da espécie <i>Aedes aegypti</i>	15
Figura 2: Mosquito adulto <i>Aedes aegypti</i>	16
Figura 3: Dimorfismo sexual em mosquito <i>Aedes aegypti</i> adulto	16
Figura 4: Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	17
Figura 5: Ovos de <i>Aedes aegypti</i>	18
Figura 6: Larva de <i>Aedes aegypti</i>	19
Figura 7: Pupa de <i>Aedes aegypti</i>	20
Figura 8: Mapa mundial da ocorrência prevista de <i>Aedes aegypti</i>	21
<u>ARTIGO</u>	
Figure 1. Swimming activity of <i>Aedes aegypti</i> larvae	66
Figure 2. Effect of <i>Syagrus coronata</i> essential oil and octanoic acid oviposition by <i>Aedes aegypti</i>	67

LISTA DE TABELAS

<u>ARTIGO</u>	Pág.
Table 1. Identification of constituents of the essential oil of <i>Syagrus coronata</i> .	66
Table 2. Larvicidal activity of essential oil from <i>S. coronata</i> seeds and octanoic acid against <i>A. aegypti</i> .	67
Table 3. Effect of <i>Syagrus coronata</i> essential oil on hatching of <i>Aedes aegypti</i> eggs.	68

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2. 1 <i>Aedes aegypti</i>	14
2. 2 <i>Dengue</i>	22
2. 3 <i>Febre amarela</i>	23
2. 4 <i>Chikungunya</i>	24
2. 5 <i>Febre do vírus Zika</i>	26
2. 6 <i>Importância do controle do A. aegypti</i>	27
2. 7 <i>Óleos essenciais</i>	28
2. 8 <i>Syagrus coronata</i> (Mart.) Becc.	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 <i>Geral</i>	31
3.2. <i>Específicos</i>	31
4. ARTIGO	32
5. CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* possui grande relevância a nível nacional e mundial por ser vetor de diversos arbovírus importantes. É considerado o principal vetor dos quatro sorotipos do vírus causador da dengue ocorrentes no Brasil (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4), apresentando também grande potencial de transmitir os agentes causadores da chikungunya e da febre do vírus Zika, recém-emergidos no país. (CAMARA *et al.*, 2016). A dengue é considerada uma das maiores preocupações de Saúde Pública, não só no Brasil, mas em todo o mundo (FURTADO *et al.*, 2005; CAVALCA *et al.*, 2010). A incidência da doença aumentou 30 vezes com o aumento da expansão demográfica nos últimos 50 anos, ocorrendo 390 milhões de infecções por ano (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2016).

O meio urbano é o principal local onde é encontrado o *A. aegypti*, sendo esses mosquitos colonizadores de criadouros artificiais de água. A falta de controle no processo de urbanização tornou o *A. aegypti* ainda mais permanente nas cidades (BESERRA *et al.*, 2009). Em países mais pobres, isto se deve muitas vezes à falta de saneamento básico e ao armazenamento inadequado de água, que aumenta a quantidade de criadouros artificiais e favorece a proliferação do *A. aegypti*. A dispersão dos mosquitos é consequência principalmente da escolha do local de oviposição (TILAK *et al.*, 2004).

Atualmente, entomologistas enfrentam um conjunto diversificado de desafios para controlar insetos-pragas urbanos (ZHU *et al.*, 2016). De modo geral, estima-se que apenas cerca de 0,1% dos pesticidas alcançam os organismos alvo; esses inseticidas que não chegam ao alvo permanecem no ambiente, contaminando-o (GILL *et al.* 2014). Para controle de insetos nocivos, o uso de óleos essenciais e outros produtos naturais têm sido considerados promissores, pois apresentam rápida degradação no ambiente e maior especificidade ao inseto alvo (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais são compostos voláteis, resultantes do metabolismo secundário de algumas plantas, desempenhando funções como: atração de polinizadores e proteção contra predadores, patógenos, perda de água, aumento de temperatura (SANTOS *et al.* 2009; KNAAK e FIUZA, 2010). Levando em consideração os problemas enfrentados com o uso de pesticidas comuns, vários estudos têm sido realizados com óleos essenciais como alternativas para controle de *A. aegypti* (MAGALHÃES *et al.*, 2010; DEMIRCI *et al.* 2013; SANTOS *et al.*, 2014).

Syagrus coronata, conhecida popularmente como licurí ou ouricuri, é uma planta da Caatinga pouco estudada. Pertence à família Arecaceae e apresenta grande importância econômica e culinária. O objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades larvicida e ovicida de óleo essencial extraído de sementes de *S. coronata* contra *A. aegypti*, bem como, avaliar sua capacidade de modular a oviposição. Ainda, foram identificados os compostos presentes no óleo e avaliada as atividades já mencionadas para um dos compostos majoritários.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. 1 *Aedes aegypti*

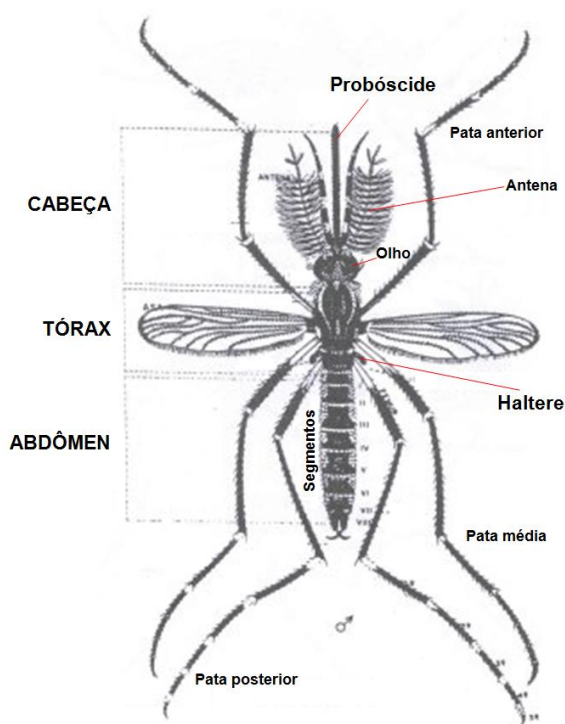
A Classe Insecta contém mais de 1.000.000 de espécies. Seus integrantes distinguem-se por apresentarem modificações no exoesqueleto e nos apêndices como asas pernas e peças bucais (GULLAN e CRANSTON. 2007). Apresentam um sistema de trocas gasosas composto por traqueias e espiráculos e apresentam também túbulos de Malpighi responsáveis pela secreção e absorção de íons, ácido úrico, água e toxinas presentes na hemolinfa (RUPPERT *et al.*, 2005).

O *Aedes aegypti* é um inseto da família Culicidae, pertencente à Ordem Diptera, na qual estão inseridos os mosquitos e as moscas. Constitui uma das ordens megadiversas de insetos, com cerca de 150.000 espécies (LIMA, 2008). Os membros desta ordem caracterizam-se por apresentarem um par de asas dianteiras funcionais e um par de asas posteriores transformadas em estruturas denominadas de halteres, que funcionam como órgãos de equilíbrio (ANAMO, Z. e BARAKI, N. 2008).

Na família Culicidae são encontrados os insetos conhecidos popularmente por mosquitos, muriçocas ou carapanãs, cujos estágios larvais são aquáticos. São reconhecidas mundialmente a existência de cerca de 3.600 espécies nesta família (ALVES *et al.*, 2010). Os insetos da família Culicidae, compreendem um táxon monofilético (HARBACH, 2007), que se subdivide em Toxorhynchitinae, que apresenta uma probóscide curvada para baixo e para trás, sendo as fêmeas não hematófagas, e Anophelinae e Culicinae, onde se encontram as espécies com importância médica, já que as fêmeas se alimentam de sangue. Apresenta entre 3510 e 3700 espécies (ALMEIDA *et al.* 2011).

Morfológicamente, o *Aedes aegypti* é um inseto, que, quando adulto (Figura 1), apresenta o corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen, sendo esta divisão mais notória que nas larvas. Os órgãos dos sentidos, como olhos, antenas e palpos, ficam situados na cabeça. Os apêndices para locomoção, asas e patas, ficam situados no tórax. O abdômen é dividido em 10 segmentos e são especializados em reprodução e excreção (RUEDA, 2008).

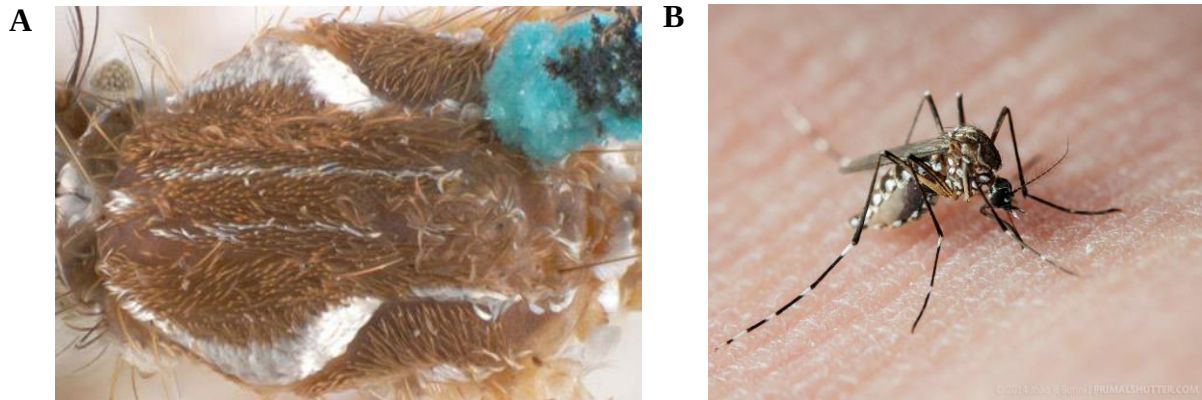
Figura 1 - Representação esquemática de um mosquito macho da espécie *Aedes aegypti*



Fonte: <http://www.pbh.gov.br/smsa/bhdengue/imagens/aedesadulto.jpg> Ano: 2016

Esta espécie se difere das demais, principalmente, por apresentar escamas brancas na superfície dorsal do tórax que formam um desenho semelhante a uma lira (Figura 2A). Cada um dos segmentos tarsais das pernas traseiras possui bandas basais brancas (Figura 2B) (CDC, 2016).

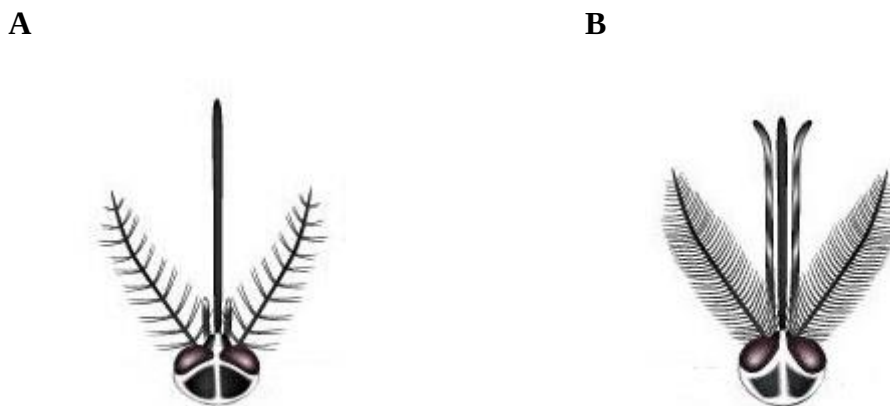
Figura 2 - Mosquito adulto *Aedes aegypti*. (A) Escamas dorsais do tórax em formato de lira. (B) Detalhe das bandas basais brancas nas patas.



Fontes: (A) Hinkley eWalker, Pest and Diseases. (B) João P.Burini. Ano: 2016

No mosquito *A. aegypti* ocorre dimorfismo sexual (Figura 3), onde há diferença no tamanho nos diferentes gêneros, sendo as fêmeas maiores que os machos. Os machos apresentam antenas plumosas (Figura 3 A), enquanto as fêmeas têm antenas pilosas (Figura 3 B). Quando visto em microscópio, o aparelho bucal dos indivíduos do sexo masculino é modificado para a alimentação de néctar e aparelho bucal das fêmeas é modificado para a alimentação de sangue (ZETTEL e KAUFMAN, 2009).

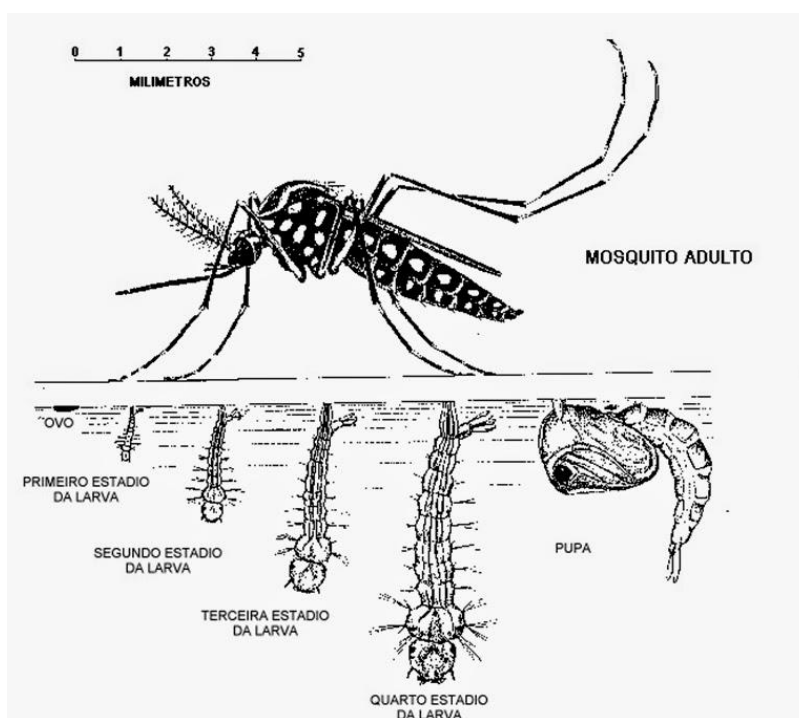
Figura 3 – Dimorfismo sexual em mosquito *Aedes aegypti* adulto. (A) antenas pilosas em fêmeas. (B) Antenas plumosas dos machos.



Fonte: Natache Marinho (2016)

A. aegypti é um inseto holometabólico, ou seja, apresenta metamorfose completa (Figura 4). Possui duas fases de desenvolvimento, uma aquática e uma terrestre. A fase aquática é dividida em ovo, larva e pupa, sendo a fase larval dividida em quatro instares. Já a fase terrestre corresponde ao mosquito na fase adulta. O desenvolvimento do inseto após a eclosão, até a fase adulta leva um período de aproximadamente 10 dias, em condições ambientais favoráveis (FIOCRUZ, 2016).

Figura 4 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.



Fonte: <http://www.dengue.org.br/> (2009)

Os ovos têm formato alongado e oval (Figura 5). Imediatamente após a postura são esbranquiçados mudando a sua coloração pouco tempo após o contato com ar. Após o repasto sanguíneo completo, as fêmeas produzem cerca de 100 a 200 ovos, podendo este número variar de acordo com a quantidade de sangue ingerida (ZETTEL e KAUFMAN, 2009). No momento da oviposição os ovos não são colocados diretamente na água, mas alguns

milímetros acima da superfície. Podem funcionar como sítios de oviposição: latas ou garrafas vazias, pneus, calhas, jarros de plantas ou qualquer outro lugar onde a água da chuva possa ficar armazenada. Quando o nível da água aumenta, entrando em contato com os ovos, estes eclodem dando origem à larva no primeiro instar (MELLO *et al.*, 2009). Em climas quentes, como nos trópicos, os ovos podem se desenvolver e eclodir em menos de dois dias, enquanto que em climas temperados mais frios, o desenvolvimento pode levar até uma semana (FOSTER e WALKER, 2002).

Figura 5. Ovos de *Aedes aegypti*



Fonte: www.ioc.fiocruz.br (2016)

A larva do *A. aegypti* (Figura 6) é composta de cabeça, tórax e abdômen, sendo este dividido em oito segmentos (FUNASA, 2001). O estágio larval do *A. aegypti* é aquático e dividido em quatro instares (Figura 4) sendo a passagem de um instar para outro marcada por um processo de muda onde há a troca do exoesqueleto. Apesar de serem aquáticas, as larvas necessitam respirar o oxigênio do ar, sendo necessário para isso que as mesmas cheguem à superfície da água. A respiração ocorre através de um sifão (FUNASA, 2001). A qualidade da

água dos reservatórios influencia diretamente a fase aquática (BESERRA, 2009). Fatores como salinidade, matéria orgânica, presença de micro-organismos e outras substâncias podem favorecer o desenvolvimento dos imaturos (BESERRA, 2010).

Figura 6 – Larva de *Aedes aegypti*



Fonte: primashutter.com. (2016)

As fêmeas preferem ovipositar em águas limpas embora possam se adaptar rapidamente a novas situações impostas pelo homem, podendo utilizar diversos tipos de criadouros (VAREJÃO *et al.*, 2005). Navarro *et al.* (2003) demonstraram que a presença de coliformes fecais e bactérias pode influenciar positivamente a oviposição, enquanto que a salinidade diminui a mesma.

Em condições favoráveis, a fase de pupa deste inseto dura em média 2,1 a 2,5 dias (CASTRO, 2013). Esta fase corresponde à transição do estágio larval para o inseto adulto. Nesta etapa não ocorre alimentação, apenas respiração. Morfologicamente, as pupas têm formato de vírgula (Figura 7). Seu corpo se divide em cefalotórax e abdômen. São bastante móveis quando perturbadas, mas estão quase sempre paradas em contato com a superfície da água (FUNASA, 2001).

Figura 7 - Pupa de *Aedes aegypti*



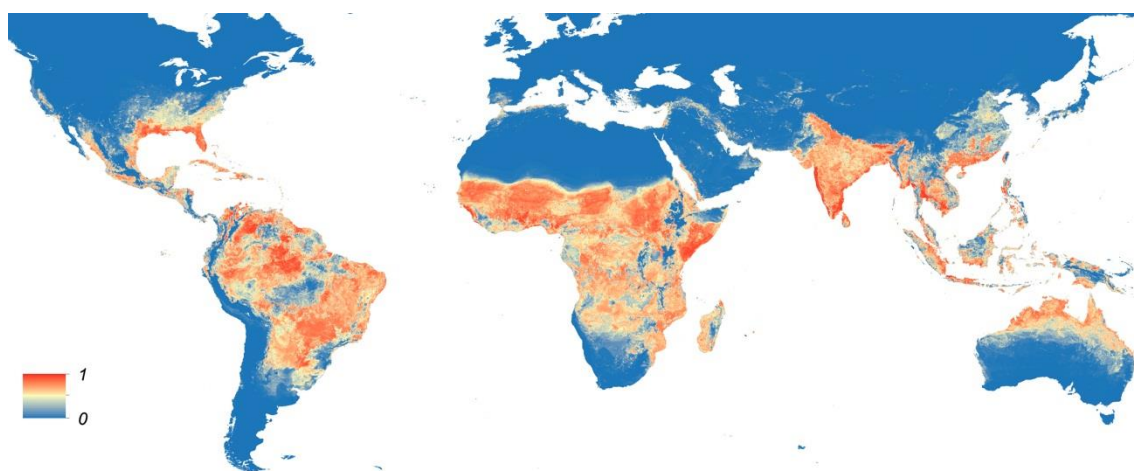
Fonte: <http://www.cdc.gov/> (2009)

Após a fase da pupa, o *A. aegypti* chega a sua fase adulta (Figura 2), a qual apresenta um tempo de vida que varia entre duas semanas a um mês, dependendo das condições do ambiente, e caracteriza-se por ser a fase reprodutiva do inseto. É um mosquito que apresenta hábitos preferencialmente diurnos (NATAL, 2002). Se alimenta de néctar de fluidos açucarados de qualquer fonte, porém as fêmeas grávidas são também hematófagas, pois o sangue é a fonte de proteínas necessárias para maturação dos ovos (YUEN, 2008). De modo geral, a fêmea faz a postura de ovos após cada repasto sanguíneo (BARATA *et al.*, 2001).

A distribuição do mosquito *A. aegypti* é predominantemente urbana, utilizando água parada, principalmente recipientes artificiais, para reprodução e desenvolvimento. Sendo assim, a umidade é um fator de grande importância para a disseminação do mosquito. A temperatura é também um fator importante que influencia a dinâmica populacional desse inseto (SCOTT *et al.*, 2000). A eclosão dos ovos, o desenvolvimento dos estágios imaturos, o desenvolvimento dos ovários, e a sobrevivência em todas as fases do ciclo de vida do mosquito são reguladas em parte pela temperatura (TUN-LIN *et al.*, 2000). Devido ao clima

quente e úmido, as regiões tropicais e subtropicais são, portanto, as áreas onde o mosquito é mais incidente, o que pode ser visualizado na Figura 8.

Figura 8 - Mapa mundial da ocorrência prevista de *Aedes aegypti*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência (sendo azul probabilidade 0 e vermelho probabilidade 100%).



Fonte: Kraemer *et al.* (2015)

De acordo com o mapa, o mosquito *A. aegypti* pode ser encontrado em todos os continentes, exceto Antártida. Segundo Kraemer *et al.* (2015), o *A. aegypti* ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais, concentrado nas regiões nordeste do Brasil, norte da África e sudeste da Ásia. Ainda, está amplamente distribuído na Austrália.

O mosquito *A. aegypti* tem grande importância na saúde pública, pois é vetor de diversas doenças, tais como dengue, febre amarela, chikungunya e zika, que serão abordadas a seguir.

2. 2 Dengue

A dengue é uma doença pandêmica viral cuja incidência tem aumentado 30 vezes ao longo dos últimos 50 anos, sendo estimados até 390 milhões de infecções anuais em mais de 100 países endêmicos, colocando quase metade da população mundial em risco (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2016). Esta doença é provocada por um vírus da família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*, e apresenta quatro sorotipos diferentes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4), os quais são sorologicamente relacionados, porém distintos antigenicamente. O vírus DEN tem sido isolado *in natura* de mosquitos do gênero *Aedes*, espécies *aegypti*, *albopictus* e *polynesienses*. O vírus DEN apresenta uma cápsula esférica com diâmetro por 40-50 nm, apresentando um RNA de cadeia simples e curta (MEHBOOB *et al.*, 2014)

Os sintomas são: febre, dor de cabeça, mialgia, dor retro orbital, artralgias, manifestações hemorrágicas, erupção cutânea e diminuição das plaquetas sanguíneas podendo em alguns casos haver anorexia e náuseas. A dengue é uma doença que apresenta um amplo espectro clínico que inclui manifestações clínicas graves e não-graves (SINGHI *et al.*, 2007).

Em alguns casos, a dengue pode se desenvolver em uma forma mais complicada, denominada Febre da Dengue Hemorrágica (FDH), que pode ser fatal. O paciente pode desenvolver a doença em sua forma mais grave após a diminuição da febre, que normalmente ocorre entre o terceiro e o sétimo dia (FIGUEREDO, 2006). Alguns fatores influenciam o desenvolvimento da dengue hemorrágica. São eles: virulência do genótipo viral, sendo o sorotipo DEN-2 o que mais provoca a forma grave; infecção secundária; idade, sendo o risco maior em pessoas mais jovens; estado nutricional e fatores genéticos (DIAS, 2010). A FDH pode se manifestar com sintomas como: dor abdominal intensa, vômitos persistentes, manifestação hemorrágica e alteração no estado mental (CDC, 2009).

O diagnóstico da dengue pode ser feito a partir do quinto dia da doença, durante o período febril. Este diagnóstico pode ser feito por isolamento do vírus em cultura de células, por detecção de RNA viral ou através da detecção de antígenos virais por ELISA ou testes rápidos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2009).

Há várias décadas o desenvolvimento da vacina contra a dengue está em andamento, porém a complexa patologia da doença, a necessidade de controlar quatro sorotipos do vírus simultaneamente e a insuficiência de investimentos tem dificultado o este processo (GUZMAN *et al.*, 2010). Testes com vacina produzida pelo Instituto Butantã em voluntários foram iniciados em junho de 2016, na cidade de São José do Rio Preto, em São Paulo (TOMAZELA, 2016).

2.3 Febre amarela

O vírus da febre amarela é também pertencente ao gênero *Flavivirus* e transmitido na América do Sul, em sua forma silvestre, principalmente por mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e na África pelo gênero *Aedes*. Em ambos os continentes, o *A. aegypti* é vetor da forma urbana (ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS, 2010). A febre amarela é uma doença infecciosa e não contagiosa, sendo o vírus detentor de apenas um sorotipo. As variações genéticas identificadas na América e na África não apresentam correlação com a gravidade da doença (FERREIRA, 2011). Juntamente com o vírus DEN, o vírus da febre amarela foi um dos primeiros micro-organismos a serem classificados como vírus, em 1902, sendo descritos como agentes filtráveis e submicroscópicos (TEIXEIRA, 1999).

O continente africano é o local onde mais ocorre a doença, concentrando 90% das notificações anuais. Os países do continente americano onde se observa maior incidência da doença são: Peru, Bolívia, Colômbia, Equador, Venezuela e Brasil (TAUIL, 2010). Em 1685,

ocorreu a primeira epidemia de febre amarela no Brasil, em Recife, capital de Pernambuco. Supostamente, o vírus foi trazido em barco procedente de São Tomé, na África, com escala em São Domingo, nas Antilhas, onde a enfermidade dizimava a população (FRANCO, 1969; TEIXEIRA, 2001). Por pelo menos dez anos a febre amarela permaneceu no Recife com caráter esporádico, sendo sua ocorrência por vezes mais intensa na época de inverno (COSTA, 2011).

A febre amarela apresenta um espectro clínico bastante amplo, podendo se manifestar nas formas de infecções desde assintomáticas e oligossintomáticas até quadros clínicos graves com evolução para morte. Neste caso, está presente a tríade clássica, caracterizada por falência hepática com surgimento de icterícia, albuminúria e hemorragia (FIGUEREDO, 2006). A febre amarela apresenta um período médio de incubação de 3 a 6 dias, mas pode ser de até 10 dias. Segundo estimativas, 90% dos casos de febre amarela com expressão clínica são classificadas como leve, oligossintomáticas, sendo raramente diagnosticadas, com apenas 10% se desenvolvendo na forma grave associada à letalidade (VASCONCELOS, 2003). A vacina contra a febre amarela começou a ser administrada no Brasil em 1939 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

2. 4 *Chikungunya*

A Chikungunya é uma doença causada por um vírus de RNA viral (CHIKV) da família Togaviridae, gênero *Alphavirus*, descrito pela primeira vez na Tanzânia em 1950 durante um surto atribuído inicialmente ao vírus DEN (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2008). A palavra “chikungunya” é derivada de uma expressão em Makonde, língua falada por um grupo que vive no sudeste da Tanzânia e norte de Moçambique, e significa “aqueles que se dobram”, como referência à posição antálgica da pessoa que sofre com a dores nas articulações (artralgia), característica da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015)

A chikungunya se caracteriza por apresentar quadros de febre, cefaleia e mialgia. Com sintomas bastantes semelhante a dengue, diferencia-se desta pela poliartrite/artralgia simétrica (principalmente nos punhos, tornozelos e cotovelos) que, em geral, melhora após 10 dias, mas que pode ressurgir durante meses ou anos após a fase febril (DONALÍSIO, 2014). Após a fase de incubação, a doença pode evoluir em etapas: fase aguda ou febril, fase subaguda e crônica. A fase aguda se inicia após o período de incubação e dura aproximadamente até o décimo dia. A fase subaguda é caracterizada pela evolução das dores articulares, durando até três meses. A fase crônica é atingida quando a duração dos sintomas persiste por meses ou anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Algumas manifestações clínicas podem variar de acordo com a idade e o sexo nestas fases. Exantema, vômitos, sangramento e úlceras orais parecem estar mais associados ao sexo feminino. Dor articular, edema e maior duração da febre na infecção pelo Chikungunya são mais prevalentes quanto maior a idade do paciente. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). A dor nas articulações tende a ser mais intensa pela manhã e pode ser aliviada com exercícios leves e exacerbada por movimentos dinâmicos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2014). As articulações dos tornozelos, punhos, carpo da mão tendem a ser mais afetadas. Nem todos os indivíduos infectados com o vírus desenvolvem sintomas. Inquéritos sorológicos indicam que 3% a 25% das pessoas apresentam infecções assintomáticas, tendo anticorpos para CHIKV (QUEYRIAUX e SISSOKO, 2008).

O diagnóstico para confirmação da febre chikunguya pode se dar pelos seguintes métodos: isolamento do vírus, PCR, detecção de anticorpos IgM e demonstração do aumento do título de anticorpos IgG (anticorpos IgM demonstráveis por ELISA podem aparecer dentro de duas semanas) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Por isto, pode não ser aconselhável fazer o teste de anticorpos durante a primeira semana. Em algumas pessoas pode levar de seis

a doze semanas para que a concentração de anticorpos IgM produzida seja suficiente para ser detectada em ELISA (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2008).

2. 5 Febre do vírus Zika

O vírus Zika (ZIKAV) foi inicialmente isolado de macaco *Rhesus* na Uganda, África, no ano de 1947 (SHAPSHAK, 2016). É um vírus de RNA de cadeia simples, que pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*. Alguns estudos relatam três principais linhagens do ZIKAV, sendo uma originária da Ásia e duas da África (LUZ *et al.* 2015). A primeira evidência de infecção humana pelo vírus Zika foi no ano de 1952, a partir de amostras de soro humano coletadas no leste da África (FAGBAMI, 1979; NHAN, 2014). Porém o ZIKAV permaneceu relativamente desconhecido até 2007, quando ocorreu de um grande surto na ilha de Yap e em outras ilhas próximas dos Estados Federados da Micronésia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Inicialmente, o surto foi equivocadamente relacionado a dengue, com a identificação do ZIKAV como agente etiológico somente após exames sorológicos e de biologia molecular.

Este vírus é transmitido principalmente por *A. aegypti* e *A. albopictus*, mas também pode ser transmitido por via sexual e por transfusão sanguínea e neonatal. Porém não se sabe o real protagonismo dessas vias de transmissão na propagação da transmissão (LUZ *et al.* 2015).

Dentre os sintomas mais comuns da febre por vírus Zika (também referida somente como “zika”) estão febre ligeira, cefaleia, exantema e conjuntivite. Estes sintomas duram de 2 a 7 dias na maioria dos casos. Não existe tratamento específico nem vacina para a doença atualmente (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2016). Apesar de ligeiramente benigna, são descritos alguns casos em que a doença apresentou quadros mais severos, que incluem comprometimento do sistema nervoso central. Também têm sido reportadas

associações entre a infecção do Zika vírus e síndrome de Guillain-Barré, bem como microcefalia fetal. (SILVA, I. R. F. *et al.* 2016

2. 6 Importância do controle do *A. aegypti*

Uma vez que não estão disponíveis atualmente vacinas contra os vírus DEN, CHIKV e ZIKAV, a principal estratégia para controle das doenças causadas por eles consiste no controle populacional do vetor. No Brasil, o controle do inseto é feito por forma mecânica, química, biológica e por ações educativas (WERMELINGER, 2014). Os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE) são responsáveis por promover o controle mecânico e químico do vetor (ZARA, 2016).

O controle mecânico consiste na eliminação dos criadouros e diminuição do contato do mosquito com o homem, através de telas em portas e janelas (MANRIQUE-SAIDE, 2015; ZARA, 2016). O controle biológico se baseia na utilização de predadores, parasitas ou patógenos para redução da população (DALZOTO, 2009). Entre as alternativas disponíveis de predadores estão os peixes que se alimentam das larvas (CAVALCANTI, 2007; SHULSE, 2013) e patógenos como o caso da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bti) que apresenta potencial larvicida devido a sua produção de uma toxina proteica (COSTA, 2010; RITCHIE, 2010). O controle químico consiste no uso de métodos químicos para controle vetorial, por vezes com efeito sinérgico, usando misturas, rotações ou sucessões inseticidas (DONALÍSIO e GLASSER, 2002). As ações educativas durante a visita domiciliar feita pelos agentes comunitários visam reduzir os criadouros dentro dos imóveis (ZARA, 2016).

Apesar desses esforços, o Programa de Controle da Dengue do Ministério da Saúde não tem conseguido prevenir a ocorrência cíclica de epidemias. Os efeitos adversos dos inseticidas químicos sobre organismos não-alvos e a seleção de indivíduos resistentes (com consequente estabelecimento de populações resistentes) tem reduzido a eficiência de

programas de controle do *A. aegypti* (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Já existem também registros de populações de *A. aegypti* apresentando resistência ao Bti (PARIS, 2011). Dessa forma, é importante que novos métodos e/ou novas ferramentas de controle sejam encontrados.

2. 7 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são definidos como compostos voláteis e lipofílicos que podem estar presentes em diversos órgãos de plantas. São oriundos do metabolismo secundário vegetal e participam de diversas funções, tais como defesa contra predadores e micro-organismos e atração de polinizadores (SIANI, 2000). São encontrados em apenas 10% do Reino Vegetal, estando armazenados em estruturas secretoras especiais, tais como glândulas, ductos secretores e cavidades secretoras (DJILANI e DICKO, 2012).

A quantidade de óleo essencial total de uma planta é normalmente muito baixa não ultrapassando 1% (BOWLES, 2003), porém em alguns casos como, por exemplo, cravo (*Syzygium aromaticum*) e noz-moscada (*Myristica fragrans*), atinge mais do que 10% (DJILANI e DICKO, 2012). A composição química dos óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, das condições geográficas, do período de colheita e da técnica utilizada na extração (SIMÕES, 2004). Em geral, são constituídos de terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), compostos aromáticos (aldeído, álcool, fenol, derivados metoxi, etc.) e terpenóides (isoprenóides) (BAKKALI *et al.*, 2008; MOHAMED *et al.*, 2010). Muitos apresentam propriedades biológicas, podendo exercer atividades sobre seres humanos, animais e outras plantas (BASER e BUCHBAUER, 2010).

Os óleos essenciais são, portanto, um dos mais importantes grupos de matérias-primas para as indústrias, principalmente as de alimentos, perfumaria e farmacêutica. (SOUZA, 2010). São comumente compostos de ação terapêutica de plantas medicinais. São aplicados sobretudo como aromas e fixadores de fragrâncias e comercializados na sua forma original ou

beneficiada, fornecendo compostos como o eugenol, citronelal, citral, limoneno, mentol e safrol (BIZZO *et al.*; 2009).

Em geral, os óleos essenciais extraídos de partir de plantas têm sido considerados importantes recursos naturais para atuar como inseticidas biodegradáveis e de baixa toxicidade para organismos não-alvo (MANIMARAN A. *et al.*, 2012; OLIVEIRA, *et al.*, 2013). Vários estudos com óleos essenciais já descreveram os mais diversos efeitos contra *A. aegypti*. Pereira *et al.* (2014) avaliaram uma mistura de óleos essenciais que apresentou uma atividade larvicida com CL₅₀ de 113,95 mg/mL. Outro estudo demonstrou que os óleos essenciais de *Arcorus calamo*, *Mentha arvensis*, *Saussurea lappa* e *Cymbopogan citratos* apresentaram LC₅₀ de 99,41; 114,33; 128,89 e 136,28 ppm, respectivamente contra *A. aegypti*. (MANZOOR *et al.*, 2013). Assim como Santos *et al.* (2014) identificaram efeito deterrente do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* quanto a oviposição, encontrando efeitos nas concentrações de 50 e 100 µg/mL.

2. 8 *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.

Syagrus coronata (conhecida popularmente como ouricuri, licuri, aricuri, coqueiro cabeçudo, licurizeiro, nicuri, urucuri ou coqueiro dicori) é uma palma endêmica da Caatinga pertencente à família Arecaceae (CATALOGUE OF LIFE, 2010). O licuri é uma das principais palmeiras nativas do Semiárido brasileiro. Esta espécie apresenta notável preferência por regiões secas e áridas da Caatinga, abrangendo o norte de Minas Gerais, ocupando toda porção oriental e central da Bahia, até o sul de Pernambuco, incluindo os estados de Sergipe e Alagoas (NOBLICK, 1986). Tem capacidade de suportar secas prolongadas, na região de origem podendo florescer e frutificar por um longo período do ano (DRUMOND, 2007).

Apresenta uma altura que varia entre 8 a 11 m, tendo folhas com aproximadamente 3 m de comprimento. Seus cachos têm em média 1357 frutos, os quais tem comprimento de 3 cm e diâmetro médio de 1,4 cm (CREPALDI *et al.*, 2001). Seu fruto é uma drupa de cor amarela e pegajosa e adocicada. As sementes, quando secas, são de cor escura e de tegumento duro que reveste a amêndoa rica em óleo.

Esta planta tem grande potencial econômico, sendo cultivada como planta ornamental. Apresenta grande potencialidade frutífera, destacando-se entre as demais plantas, por ser totalmente aproveitável. Na alimentação, a semente desta planta pode ser consumida crua, cozida ou torrada, podendo também ser utilizada para obtenção do óleo geralmente empregado na culinária local. Das suas folhas pode ser extraída cera, a qual tem várias aplicações industriais (BELVISO *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2011). Estas também são usadas para artesanato forragem para os animais, sendo trituradas e utilizadas como ração, e cobertura de construções campestres, paredes e portas. (EMBRAPA, 2007). O uso e exploração desordenados dessa espécie tornam-a vulnerável, embora a maioria das palmeiras brasileiras não esteja incluída como ameaçada de extinção (RUFINO, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Caracterizar o óleo essencial extraído de sementes *Syagrus coronata* e avaliar suas atividades larvicida e ovicida contra *A. aegypti* bem como seu efeito sobre a oviposição.

3.1 Específicos

- Identificar os componentes presentes no óleo essencial extraído de sementes de *S. coronata*.
- Avaliar o efeito do óleo essencial e dos ácidos octanóico, decanóico e dodecanóico (compostos majoritários do óleo) na sobrevivência de larvas de *A. aegypti* no quarto instar.
- Investigar o efeito do óleo na atividade natatória das larvas.
- Avaliar o efeito do óleo essencial na eclosão de ovos de *A. aegypti*.
- Determinar o efeito do óleo essencial e do ácido octanóico sobre a oviposição de fêmeas de *A. aegypti*.

4 ARTIGO

Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*

ARTIGO A SER SUBMETIDO AO PERIÓDICO



Fator de Impacto: 2.093

Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*

Leilane M.M. Santos^a, Jéssica S. Nascimento^b, Mirela A.G. Santos^b, Nadja B. Marriel^c,
Patrícia C. Bezerra-Silva^b, Suyana K.L. Rocha^b, Alexandre G. Silva^d, Maria T.S. Correia^a,
Patrícia M.G. Paiva^a, Gustavo F. Martins^c, Daniela M.A.F. Navarro^b, Márcia V. Silva^a,
Thiago H. Napoleão^{a,*}

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.*

^b*Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil.*

^c*Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.*

^d*Instituto Nacional do Semiárido, 58429-970, Campina Grande, Paraíba, Brazil.*

*Corresponding author. Tel: +558121268540; fax: +558121268576.

E-mail address: thiago86@yahoo.com.br

Abstract

This work evaluated the potential of a volatile oil extracted from *Syagrus coronata* seeds for the control of *Aedes aegypti*. The oil was extracted by hydrodistillation, characterized by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and evaluated for larvicidal and ovicidal activities, as well as for influence on the choice of oviposition site by females. It was also investigated the effect of the oil on the swimming activity of larvae. The oil extraction showed a yield of 0.41% and GC-MS revealed that 98.42% of the composition corresponded to the following fatty acids: octanoic acid (40.55%), decanoic acid (17.39 %) and dodecanoic acid (40.48%). The oil promoted the death of *A. aegypti* larvae, with LC₅₀ of 21.07 ppm, but had no ovicidal action. The octanoic, decanoic and dodecanoic acids showed larvicidal activity with LC₅₀ of 51.78, 24.01 and 19.72 ppm, respectively. The swimming activity of larvae incubated with the oil during 1 and 3 h was significantly ($p < 0.05$) lower than that of control (0.2% Tween 80, v/v) larvae. The *S. coronata* oil and the octanoic acid (both at 50 ppm) showed a deterrent effect on oviposition. In conclusion, the essential oil of *S. coronata* seed was able to promote death of *A. aegypti* larvae and exerted a deterrent effect on pregnant females. The results indicated that the larvicidal activity is due to the action of decanoic and dodecanoic acids while the oviposition deterrent effect is probably linked to the presence of octanoic and decanoic acids.

Keywords: larvicide; ovicidal assay; oviposition; fatty acids; essential oil.

1. Introduction

Aedes aegypti is a mosquito belonging to the Culicidae family and known to be the vector of the viruses that cause dengue, chikungunya and Zika virus disease. Dengue is an illness characterized by high fever, severe headache, pain behind the eyes, muscle and joint pains, nausea, vomiting, swollen glands or rash (World Health Organization, 2016a). It is among the most important viral illnesses disseminated by arthropods throughout the world and is a major public health concern since the incidence of the more severe forms has increased in the last decades (Bhatt et al., 2013; Santana et al., 2015). Recent estimates indicate that 3.9 billion of people in 128 countries are at risk of acquiring dengue and 390 million dengue infections occur every year, of which 294 million manifest clinically the symptoms (Brady, 2012; Bhatt et al., 2013; World Health Organization, 2016a).

Outbreaks of chikungunya (a rheumatic disease that can influence life quality of infected people for weeks, months, or years) have recently emerged in Africa, Americas and Asia, as well as in some European countries (Delisle et al., 2015; World Health Organization, 2016b). Currently, about 60 countries and territories are experiencing outbreaks of Zika (characterized by mild headaches, maculopapular rash, fever, malaise, conjunctivitis, and joint pains). In addition, it has been reported associations between Zika virus infection and Guillain-Barré syndrome as well as fetal microcephaly (Cao-Lormeau et al., 2016; Mlakar et al., 2016; Morrison et al., 2016; Yusuf et al., 2016; World Health Organization, 2016c,d).

The use of chemical insecticides (such as organophosphates), insect growth regulators, and microbial agents for controlling mosquitoes has been the main strategy adopted by public health programs to control the incidence of the diseases mentioned above (Benelli, 2015). However, the emergence of mosquito populations resistant to the conventional insecticides has been recorded in several parts of the world (Dusfour et al., 2011, Marcombe, 2014;

Macoris et al., 2014). In addition, these compounds are able to promote serious damages to environment and human health (Benelli, 2015). In this context, several studies have been conducted evaluating compounds with potential to be used in control of mosquito-borne diseases, mainly natural products, which are biodegradable and usually less toxic or non-toxic to the environment (Tyagi, 2016).

The essential (volatile) oils are mixtures of lipophilic compounds, usually with strong odor (Bakkali, 2008). They can be stored in special secreting structures, such as secretory ducts and glands trichomes, and are found in all organs and tissues of plants (Navarro et al., 2013). The physiological importance of essential oils has been linked to pollination, plant-plant interactions, and protection against microorganisms, herbivores and predators (Maffei et al., 2011). These oils are broadly studied as alternative insecticides against mosquitoes (Conti et al., 2014; Tabanca et al., 2015; Silva et al., 2015, 2016) and strategies for their biotechnological application have been evaluated. A study on the larvicidal activity of a formulation containing *Citrus sinensis* essential oil showed that a gelling nanostructured system improved the oil solubility in water and then can be used as delivery vehicle (Ferreira et al., 2015). A nanoemulsion containing the *Pterodon emarginatus* oil, considered non-toxic for mammals, also showed larvicidal activity and it was suggested that the mechanism of action might involve reversible inhibition of acetylcholinesterase (Oliveira et al., 2016).

The oviposition-deterrent and repellent activities of essential oils against *A. aegypti* are also well documented. The presence of an oviposition deterrent is useful to avoid the laying of eggs in potential breeding sites and thus to minimize the spread of the disease in a given area (Bentley and Day, 1989; Singh and Mittal, 2015). Some essential oils have shown repellent activity equivalent to that of *N,N*-Diethyl-3-methylbenzamide (DEET), which is the most common active ingredient in insect repellents (Bernier et al., 2005; Tisgratog et al., 2016). A repellent cream formulation containing essential oils from camphor, cinnamon, citronella,

lemongrass, lime, orange, neem, basil, *Vitex*, *Lantana*, eucalyptus, and clove was repellent against *A. aegypti*, promoting 100% protection until 3 h at field conditions, revealing the synergistic effects between its components (Reegan et al., 2014).

Syagrus coronata (Arecaceae), popularly known as “ouricuri” or “licuri” is a palm typically found in the Caatinga (semiarid region of Brazilian northeast), enduring prolonged drought and flowering and fruiting during a long period of the year (Drumond, 2007). Its uses in culinary (mainly the fruit oil), construction, folk art, fuel, and medicine have been reported but the predominant value is linked to the almond's usage (Rufino et al., 2008). The economical and social importance of *S. coronata* fruits stimulated us to evaluate the presence of volatile oil in the seeds of this plant and its possible biotechnological potential. In this sense, this work reports the characterization and evaluation of a volatile oil from *S. coronata* seeds for larvicidal and ovicidal activities as well as to effects on oviposition of *A. aegypti*.

2. Materials and methods

2.1. Plant collection

Seeds of *S. coronata* were collected in March 2014 at the Vale do Catimbau National Park (PARNA do Catimbau; 08°30'02.3" S 37°20'31" W) in Pernambuco, Brazil, with authorization (number 16806) of the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio) from Brazilian Ministry of Environment. Voucher specimen (number 90,470) is deposited at the herbarium “Dárdano de Andrade Lima” from the *Instituto Agrônomo de Pernambuco*, Recife, Brazil.

2.2. Volatile oil

The powder of *S. coronata* seeds was submitted to hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus for 4 h. The volatile oil obtained was then dried over anhydrous sodium sulphate and stored in sealed vials protected from the light at -20°C. The extraction of the volatile oil from *S. coronata* seeds showed a yield of 0.41%. For use in the assays, a stock solution was prepared by dissolving 0.01 g of the oil in 100 mL of 0.2% (v/v) Tween 80 in distilled water.

2.3. Chromatography analysis

2.3.1. Quantification of oil components

Gas Chromatography (GC) analyses were performed in order to determine the relative proportions of the components of the oil. These analyses were carried on a Thermo Trace GC Ultra (Thermo Scientific, Milan, Italy) equipped with a flame ionization detector (FID) and a VB-5 fused silica capillary column (ValcoBond 30 m × 0.25 mm i.d.; film thickness 0.25 mm). Nitrogen at a flow rate of 1 L/min and 30 psi inlet pressure was employed as a carrier gas. The oven temperature program was: initially 40 °C, held for 2 min, increased to 230°C at 4°C/min, and then held for 5 min. Injector and detector temperatures were set to 250°C and 280°C, respectively. The sample (1 µL) was injected splitless. The relative amount of each component was estimated according to the corresponding peak area expressed as a percentage of the total peak areas of the chromatogram. Analyses were carried out in triplicate to provide a standard deviation.

2.3.2. Identification of the compounds

In order to identify the compounds present in the oil, which contained fatty acids, the sample was submitted to an esterification according to the Standard Method ISO 5509:2000 and purification process (International Organization for Standardization, 2009; Lima et al., 2013a,b). Samples (before and after esterification) were submitted to GC analyses to mass spectrometry (GC-MS). These analyses were carried out using an Agilent 5975C Series GC/MSD (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) quadrupole instrument equipped with an Agilent J&W non-polar DB-5 fused silica capillary column (30 m $\times$ 0.25 mm i.d.; film thickness 0.25 μ m). For each sample (n=3), 1 μ L was injected in split mode (50:1) with the injector temperature set to 250°C. GC oven temperature was set to 40°C, held for 2 min, increased to 230°C at 4°C/min, and then held for 5 min. Helium (He) carrier gas flow (1 mL/min) was maintained at a constant pressure of 7.0 psi. MS Source and quadrupole temperatures were set to 230°C and 150°C, respectively. Mass spectra were taken at 70 eV (in EI mode) with a scanning speed of 1.0 scans from m/z 35–350.

The identification of the individual esters was carried out by comparison with previously reported values of retention indices, obtained by co-injection of oil samples and C₉–C₃₀ linear hydrocarbons, and calculated according to the equation of Van den Dool and Kratz. Subsequently, the MS data acquired for each component were matched with those stored in the mass spectral library of the GC–MS system (MassFinder 4, NIST08 and Wiley Registry™ 9th Edition) and with other published mass spectral data (Adams, 2007). All chemicals and solvents used were of Analytical Grade purity or greater.

2.4. Bioassays with *A. aegypti*

2.4.1. Insects

The insect colony used in the experiments belongs to Rockefeller strain. The rearing room was kept at 25–27°C and 75–80% humidity, with a 12:12 light–dark photoperiod. *A. aegypti* eggs were hatched in distilled water at a temperature range of 25–27°C and cat food (Whiskas®) was offered to larvae.

2.4.2. Larvicidal activity

When reaching the early fourth stage (L4), the larvae were collected and used in the bioassays. The larvicidal activity was evaluated by an adaptation of the World Health Organization (1981) method described by Navarro et al. (2003). Stock solution of the *S. coronata* oil was diluted in distilled water to provide test solutions in the concentration range of 15–30 ppm. The final volume of each larvicidal assay was 20 mL of test solution or negative control (0.2%, v/v, Tween 80 in distilled water) and contained 25 larvae. Mortality rate (%) was determined after 48 h of incubation at 25–27°C and 12:12 light–dark photoperiod. Larvae that were unable to reach the surface solution or did not respond to mechanical stimulus were considered dead (World Health Organization, 1981). Three independent experiments were performed in duplicate. Larvicidal assays were also performed at these same conditions using the octanoic, decanoic, and dodecanoic acids (Sigma-Aldrich, USA) at concentration ranges 45–60 ppm, 15–30 ppm, and 10–30 ppm, respectively.

2.4.3. Swimming bioassay

In each assay, twenty *A. aegypti* larvae (L4) were exposed during 1, 3, 5, 7 and 24 h to the *S. coronata* volatile oil at the LC_{50/48 h} (test), to the 0.2% Tween 80 solution (control) or to only distilled water. After each period, the larvae were transferred to a Petri dish (90 x 100 mm) filled with 20 mL of test solution. The swimming activity of the larvae was recorded for 15 min with a charge-coupled device camera and digitally transferred to a computer equipped with video-tracking software (VideoTrack System, Viewpoint LifeSciences, Montreal, Canada). The camera was positioned 30 cm from the arena. The swimming activity level (in pixels) was determined and the bioassays were carried out under incandescent light at a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.4.4. Ovicidal activity

The assay was performed according to Santos et al. (2012). *A. aegypti* eggs on filter papers, stored for a maximum of 1 month at 25–27°C, were selected by considering their integrity using a stereomicroscope (Leica M80). The stock solution of the oil was diluted in filtered tap water to provide a test concentration range of 70–100 ppm. Controls contained 0.2% (v/v) Tween 80 solution (volume equivalent to that of sample used to achieve each concentration) and filtered tap water (volume enough to complete 20 mL). Each assay had a final volume of 20 mL and contained 50–60 eggs. The number of hatched larvae was determined after 72 h of incubation at 25–27°C. Three independent experiments were performed in duplicate.

2.4.5. Oviposition assay

Oviposition assay was performed according to Navarro et al. (2003). A total of 25 *A. aegypti* gravid females (3 days after blood feeding) were transferred to a cage containing two plastic vessels (diameter 10 cm): one containing 20 mL of 0.2% (v/v) Tween 80 solution in distilled water (control) and the other containing 20 mL of a *S. coronata* volatile oil solution at 50 ppm (test). The vessels were placed diagonally at opposite corners of the cage. A piece of filter paper was placed in each vessel to provide a support for oviposition. The females were maintained at $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ with $73 \pm 0.4\%$ relative humidity for 14 h in the dark. After this period, eggs deposited in each vessel were manually counted with the aid of a stereomicroscope. Two independent experiments were performed, each with eight replicates. The oviposition response (OR) and the oviposition active index (OAI) were calculated as follows:

$$OR (\%) = 100 \times A \left(\frac{A}{A+B} \right) \quad (1)$$

$$OAI = \frac{A-B}{A+B} \quad (2)$$

where *A* corresponds to the number of eggs laid in test vessel and *B* corresponds to the number of eggs laid in test vessel. OAI value higher than +0.3 indicates attractant effect while OAI lower than -0.3 indicates repellent/deterrent effect (Kramer and Mulla, 1979). Oviposition assay was also performed at these same conditions using the octanoic acid at 50 ppm.

2.5. Statistical analysis

Standard deviations (SD) were calculated using GraphPad Prism version 4.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) and data were expressed as mean of replicates $\pm$ SD. One-way fixed-effects ANOVA (significance at $p < 0.05$) was conducted using the IBM® SPSS® Statistics version 24 (IBM Corp.). The linear regressions and the concentrations required to kill 50%, 90% and 99% of larvae (LC₅₀, LC₉₀, LC₉₉) in 48 h were established by probit analysis with a reliability interval of 95% also using the IBM® SPSS® Statistics software.

3. Results and discussion

GC-MS analyses revealed that the volatile oil from *S. coronata* seeds was mainly composed by fatty acids. It was identified three compounds, corresponding to 98.42% of the oil (Table 1) being the octanoic acid (40.55%) and the dodecanoid acid (40.48%) the majoritarian components.

Plant-derived insecticides have been evaluated against several species of disease vectors and are considered cost-effective methods for use in integrated pest management, with lower hazard to people and the environment in comparison with synthetic insecticides (Procópio et al., 2015). In this scenario, we evaluated the hypothesis that the *S. coronata* volatile oil could be a potential insecticidal agent for use in control of *A. aegypti*.

The oil was effective in promote the death of *A. aegypti* larvae, with a LC₅₀ value of 21.07 ppm for 48 h; other information on the larvicidal activity of the oil are available in Table 2. The essential oils from *Dendropanax morbifera*, *Clausena anisata*, *Croton rhamnifolioides*, and *Eugenia brejoensis* were less active against *A. aegypti* larvae than the *S.*

coronata oil since they showed LC₅₀ of 62.32, 130.19, 89.03, and 214.7 ppm, respectively (Chung et al., 2009; Govindarajan, 2010; Santos et al., 2014; Silva et al., 2015). The essential oil from *Piper corcovadensis* leaf was slightly less toxic to the larvae (LC₅₀: 30.52 ppm) while the oils from leaf, stem, and inflorescence of *Piper marginatum* showed larvicidal activity (LC₅₀ of 23.8, 19.9 and 19.9 ppm, respectively) similar to that determined by us for the *S. coronata* oil (Autran et al., 2009; Silva et al., 2016).

The effects of the octanoic, decanoic and dodecanoic acids on larvae survival were then determined. The results can be seen in Table 2 and reveal that the octanoic acid showed a LC₅₀ value about 2.45 times higher than that determined for the oil while decanoic and dodecanoic acids showed a larvicidal effect similar to the oil, which indicates that these two last are responsible for the larvicidal activity. Perumalsamy et al. (2015) reported that fatty acids were able to kill *A. aegypti* larvae. These authors also reported that the degree of saturation, the side chain length, and the geometric isomerism of fatty acids may influence the toxicity to larvae; in addition, they showed that the acetylcholinesterase was the main target of oleic and palmitic acids while the octopaminergic system was affected by the elaidic, arachidic, and behenic acids.

Since inhibition of acetylcholinesterase activity has been reported as an action mechanism of fatty acids and this may lead to impairment of the motility of larvae, we evaluated whether the *S. coronata* oil at LC_{50/48h} would be able to affect swimming of the *A. aegypti* larvae exposed for periods (1 to 24 h) corresponding to sublethal conditions (Figure 1). It was observed that the swimming activity of larvae exposed to the oil was not significantly ($p > 0.05$) different among the incubation periods. On the other hand, the swimming activity of larvae incubated with the solvent (Tween) for 1 h and 3 h was higher ($p < 0.05$) than in other periods; the motility decreased to levels similar to those of larvae treated with the oil since from 5-h incubation time. The high motility of larvae in the first hours in

presence of Tween may be a reaction to the presence of a foreign substance. Taking this possibility, the results indicate that the *S. coronata* oil interfered with this ability of larvae in reacting to Tween presence. Compounds with this property may be important, for example, in use as an additive together with another insecticide. Alterations in the swimming activity of mosquito juveniles (larvae, pupae) may affect several activities, such as breathing, foraging, refuge seeking and predator evasion (Tomé et al., 2015).

Eggs of *A. aegypti* have also been considered promising targets for mosquito control since, similarly to the larvae, they are also confined in the aquatic environments (Pontual et al., 2014). Thus, we evaluated the ovicidal activity of the *S. coronata* essential oil. However, the oil did not reduce the hatching rate at any of the concentrations tested, in comparison with the control (Table 3).

The results from oviposition assay demonstrated that the *A. aegypti* gravid females laid their eggs preferentially in the control vessel (Figure 2A). The OAI index was -0.35 indicating deterrent effect of the *S. coronata* oil at 50 ppm. Other essential oils, extracted from different plant parts, have shown oviposition-deterrent effects such as those extracted from *C. rhamnifolioides* leaves, *Etlintera elatior* flowers, *Cananga odorata* flowers, *Cymbopogon citratus* stem, *Cymbopogon nardus* stem, *Eucalyptus citriodora* leaves, *Ocimum basilicum* leaves and *Syzygium aromaticum* flowers (Phasomkusolsil and Soonwera, 2012; Santos et al., 2014; Bezerra-Silva et al., 2016).

In the oviposition assay with the octanoic acid, the females also laid their eggs preferentially in the control vessel (Figure 2B) and the OAI was -0.31, also revealing an oviposition-deterrent effect. It was previously reported that the decanoic acid also possess a deterrent effect (Hwang et al., 1982) while the dodecanoic acid exerted an attractive action, with OAI indexes of +0.37 and +0.54 in assays at 10 and 100 ppm (Ganesan et al., 2006). Indeed, Bezerra-Silva et al. (2016) reported that compounds constituted by oxygenated

hydrocarbon chains are able to elicit responses in the antennae of *A. aegypti* females. Thus, the oviposition-deterrent effect of the *S. coronata* oil may be linked to the responses elicited in the sensilla of the antennae by the octanoic acid and the decanoic acid, whose concentrations account for 58% of the oil composition, enough to overlay the attractive action of dodecanoic acid.

Conclusion

The essential oil extracted from *S. coronata* seeds is able to promote death of *A. aegypti* larvae and to exert oviposition-deterrent effect on gravid females. The oil also interfered with the motility response of larvae in the first hours of incubation. The results indicated that the larvicidal activity is due to the action of decanoic and dodecanoic acids while the oviposition deterrent effect is probably linked to the presence of octanoic and decanoic acids.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) for research grants (446902/2014-4) and fellowships (P.M.G. Paiva, G.F. Martins, D.M.A.F. Navarro). They are also grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES, AUXPE 1454/2013) and the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (FACEPE, APQ-0108-2.08/14; FACEPE-PPSUS, APQ-0330-2.08/13) for research grants. L.M.M. Santos would like to thank FACEPE (IBPG-0251-2.08/14) for graduate scholarship.

References

- Autran ES, Neves IA, Silva CSB, Santos GKN, Câmara CAG, Navarro DMAF (2009) Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresour Technol* 100:2284-2288.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol* 46:446–475.
- Benelli G. (2015) Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitol Res* 114:2801-2805.
- Bentley MD, Day JF (1989) Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Ann Rev Entomol* 34:401-421.
- Bernier UR, Furman KD, Kline DL, Allan SA, Barnard DR (2005) Comparison of contact and spatial repellency of catnip oil and *N,N*-diethyl-3-methylbenzamide (Deet) against mosquitoes. *J Med Entomol* 4:306-311.
- Bezerra-Silva PC, Dutra KA, Santos GKN, Silva RCS, Iulek J, Milet-Pinheiro P, Navarro DMAF (2016) Evaluation of the activity of the essential oil from an ornamental flower against *Aedes aegypti*: Electrophysiology, molecular dynamics and behavioral assays. *PLoS ONE* 11:e0150008.
- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, Drake JM, Brownstein JS, Hoen AG, Sankoh O, Myers MF, George DB, Jaenisch T, Wint GRW, Simmons CP, Scott TW, Farrar JJ, Hay SI (2013) The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496:504-507.
- Brady OJ (2012) Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Negl Trop Dis* 6:e1760.

- Cao-Lormeau V-M, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, Dub T, Baudouin L, Teissier A, Larre P, Vial A-L, Decam C, Choumet V, Halstead SK, Willison HJ, Musset L, Manuguerra J-C, Despres P, Fournier E, Mallet H-P, Musso D, Fontanet A, Neil J, Ghawché F (2016) Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* 387:1531-1539.
- Chung I-M, Seo S-H, Kanga E-Y, Park S-D, Park W-H, Moond H-I (2009) Chemical composition and larvicidal effects of essential oil of *Dendropanax morbifera* against *Aedes aegypti* L. *Biochem Sys Ecol* 37:470-473.
- Conti B, Flamini G, Cioni PL, Ceccarini L, Macchia M, Benelli G (2014) Mosquitocidal essential oils: are they safe against non-target aquatic organisms? *Parasitol Res* 113:251–259.
- Delisle E, Rousseau C, Broche B, Goffart IL, L'Ambert G, Cochet A, Prat C, Foulongne V, Ferré JB, Catelinois O, Flusin O, Tchernonog E, Moussion IE, Wiegandt A, Septfonds A, Mendy A, Moyano MB, Laporte L, Maurel J, Jourdain F, Reynes J, Paty MC, Golliot F (2015) Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. *Eurosurveillance* 20:21108.
- Drumond MA (2007) Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Documentos on line 199. Embrapa Semi-Árido, Petrolina.
- Dusfour I, Thalmensy V, Gaborit P, Issaly J, Carinci R, Girod R. (2011) Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106:346-352.
- Ferreira SG, Conceição VS, Gouveia NS, Santos GS, Santos RLC, Lira AAM, Cavalcanti SCH, Sarmiento VHV, Nunes RS (2015) An environmentally safe larvicide against *Aedes*

- aegypti* based on in situ gelling nanostructured surfactant systems containing an essential oil. J Colloid Interface Sci 456:190-196.
- Ganesan K, Mendki MJ, Suryanarayana MVS, Prakash S, Malhotra RC (2006) Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ovipositional responses to newly identified semiochemicals from conspecific eggs. Aust J Entomol 45:75-80.
- Govindarajan M (2010) Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. Asian Pac J Trop Med 3:874-877.
- Hwang YS, Schultz GW, Axelrod H, Kramer WL, Mulla MS (1982) Ovipositional repellency of fatty acids and their derivatives against *Culex* and *Aedes* mosquitoes. Environ Entomol 11:223-226.
- International Organization for Standardization (2000) ISO 5509. Animal and vegetable fats and oils: preparation of methyl esters of fatty acids. International Organization for Standardization, Geneva.
- Kramer LW, Mulla SM (1979) Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition responses of *Culex* mosquito to organic infusions. Environ Entomol 8:1111-1117.
- Lima LCM, Navarro DMAF, Souza-Santos P (2013) Effect of diet on the fatty acid composition the copepod *Tisbe biminiensis*. J. Crust. Biol 33:372-381.
- Lima LCM, Navarro DMAF, Souza-Santos P (2013) Methyl esters from the copepod *Tisbe biminiensis* assayed by two transesterification methods. Crustaceana 86:1343-1353.
- Macoris MLG, Andrighetti M, Wanderley DMV, Ribolla PEM (2014) Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 47:573-578.

- Maffei ME, Gertschb J, Appendino G (2011) Plant volatiles: Production, function and pharmacology. *Nat Prod Rep* 28:1359-1380.
- Marcombe S, Farajollahi A, Healy SP, Clark GG, Fonseca DM (2014) Insecticide resistance status of United States populations of *Aedes albopictus* and mechanisms involved. *PLoS ONE* 9:e101992.
- Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Rus KR, Vipotnik TV, Vodušek VF, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Županc TA (2016) Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* 374:951-958.
- Morrison CR, Plante KS, Heise MT (2016) Chikungunya virus: Current perspectives on a reemerging virus. *Microbiol Spectrum* 4:EI10-00178-2016.
- Navarro DMAF, Oliveira PES, Potting RPJ, Brito AC, Fital SJF (2003) The potential attract or repellent effects of different water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Diptera, Culicidae). *J Appl Entomol* 127:46-50.
- Navarro DMAF, Silva PCB, Silva MFR, Napoleão TH, Paiva PMG (2013). Larvicidal activity of plant and algae extracts, essential oils and isolated chemical constituents against *Aedes aegypti*. *Natl Prod J* 3:268-291.
- Oliveira AEMFM, Duarte JL, Amado JRR, Cruz, RAS, Rocha CF, Souto RNP, Ferreira RMA, Santos K, Conceição EC, Oliveira LAR, Kelecom A, Fernandes CP, Carvalho JCT (2016) Development of a larvicidal nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel oil. *PLoS ONE* 11:e0145835.
- Perumalsamy H, Jang MJ, Kim J-R, Kadarkarai M, Ahn Y-J (2015) Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Millettia pinnata* seed toward three mosquito species. *Parasit Vectors* 8: 237.

- Phasomkusolsil S, Soonwera M (2012) The effects of herbal essential oils on the oviposition deterrent and ovicidal activities of *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Trop Biomed 29:138-150.
- Pontual EV, Santos NDL, Moura MC, Coelho LCBB, Navarro DMAF, Napoleão TH, Paiva PMG (2014) Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. Parasitol Res 113:727-733.
- Procópio TF, Fernandes KM, Pontual EV, Ximenes RM, Oliveira ARC, Souza CS, Melo AMMA, Navarro DMAF, Paiva PMG, Martins GF, Napoleão TH (2015) *Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. PLoS ONE 10:e0126612.
- Reegan AD, Kannan RV, Paulraj MG, Ignacimuthu S (2014) Synergistic effects of essential oil-based cream formulations against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). J Asia-Pacific Entomol 17:327–331.
- Rufino MUL, Costa JTM, Silva VA, Andrade LHC (2008) Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil. Acta Bot Bras 22:1141-1149.
- Santana HT, Trinade FTT, Stabeli RG, Silva AAE, Militão JSTL, Facundo VA (2015) Essential oils of leaves of *Piper* species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev Bras Plantas Med 17:105-111, 2015.
- Santos GKN, Dutra KA, Lira CS, Lima BN, Napoleão TH, Paiva PMG, Maranhão CA, Brandão SSF, Navarro DMAF (2014) Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin activity. Molecules 19:16573-16587.
- Santos NDL, Moura KS, Napoleão TH, Santos GKN, Coelho LCBB, Navarro DMAF, Paiva PMG (2012) Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*. PLoS ONE 7:e0044840.
- Silva AG, Alves RCC, Filho, CMB, Bezerra-Silva PC, Santos LMM, Navarro DMAF, Silva MV, Correia MTS (2015) Chemical composition and larvicidal activity of the essential

- oil from leaves of *Eugenia brejoensis* Mazine (Myrtaceae). J Essent Oil Bear Plants 18:1441-1447.
- Silva MFR, Bezerra-Silva PC, Lira, CS, Albuquerque BNL, Agra-Neto AC, Pontual EV, Maciel JR, Paiva PMG, Navarro DMAF (2016) Composition and biological activities of the essential oil of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC (Piperaceae). Exp Parasitol 165:64-70.
- Singh SP, Mittal PK (2015) Mosquito repellent and oviposition deterrent activities of *Laggera aurita* plant extract against malaria vector *Anopheles stephensi*. Entomol Appl Sci Lett 2:18-22.
- Tabanca N, Demirci B, Ali A, Ali Z, Blythe EK, Khana IA (2015) Essential oils of green and red *Perilla frutescens* as potential sources of compounds for mosquito management. Ind Crop Prod 65:36–44.
- Tisgratog R, Sanguanpong U, Grieco JP, Ngoen-Kluana R, Chareonviriyaphapa T (2016) Plants traditionally used as mosquito repellents and the implication for their use in vector control. Acta Trop 157:136–144.
- Tomé HVV, Pascini TV, Dângelo RAC, Guedes RNC, Martins GF (2014) Survival and swimming behavior of insecticide-exposed larvae and pupae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Parasit Vectors 7:195.
- Tyagi BK (2016) Advances in vector mosquito control technologies, with particular reference to herbal products. In: Veer V, Gopalakrishnan R (Eds.) Herbal Insecticides, Repellents and Biomedicines: Effectiveness and Commercialization, Springer India, pp 1-9.
- World Health Organization (1981) Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807. pp. 1-6.
- World Health Organization (2016a) Dengue and severe dengue. Fact sheet 117. Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>

World Health Organization (2016b) Chikungunya. Fact sheet 327. Available in:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/>

World Health Organization (2016c) Zika virus. Fact sheet. Available in:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/en/>

World Health Organization (2016d) Zika situation report. Emergences – 16 June 2016.
Available in: <http://www.who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/16-june-2016/en/>

Yusuf M, Hussain HF (2016) Zika virus: Another alarming threat. J Pak Med Assoc. 66:789.

Table 1. Identification of constituents of the volatile oil of *Syagrus coronata*.

Nº	Compound ^a	Retention indexes		Content (as % of total oil)
		Determined ^b	Literature ^c	
1	Octanoic acid	1195	1167	40.55 ± 2.41
2	Decanoic acid	1378	1364	17.39 ± 0.62
3	Dodecanoic acid	1573	1565	40.48 ± 1.82
Total:				98.42

^a Constituents listed in order of elution on a non-polar DB-5 column; ^b Retention indices calculated from retention times in relation to those of a series of C₉-C₃₀*n*-alkanes on a 30 m DB-5 capillary column. ^c Values taken from Adams (2007).

Fonte: A autora (2016)

Table 2. Larvicidal activity of volatile oil from *S. coronata* seeds and octanoic acid against *A. aegypti*.

Sample	Oil concentration (ppm)		
	LC ₅₀ [confidence interval]	LC ₉₀	LC ₉₉
Essential oil	21.07 [19.95–22.18]	32.56	34.51
Octanoic acid	51.78 [48.76–54.81]	64.10	66.20
Decanoic acid	24.01 [23.31–24.71]	28.98	29.83
Dodecanoic acid	19.72 [18.47–20.97]	31.09	33.03

Lethal concentrations required to 50% (LC₅₀), 90% (LC₉₀) and 99% (LC₉₉) of larvae in 48 h were calculated by probit analysis with a reliability interval of 95%.

Fonte: A autora (2016)

Table 3. Effect of *Syagrus coronata* volatile oil on hatching of *Aedes aegypti* eggs.

Treatment	Hatching rate (%)
Essential oil (ppm)	
70	52.33 $\pm$ 7.1
80	63.2 $\pm$ 11.9
90	45.33 $\pm$ 7.9
100	50.4 $\pm$ 7.8
Fonte: A autora (2016)	

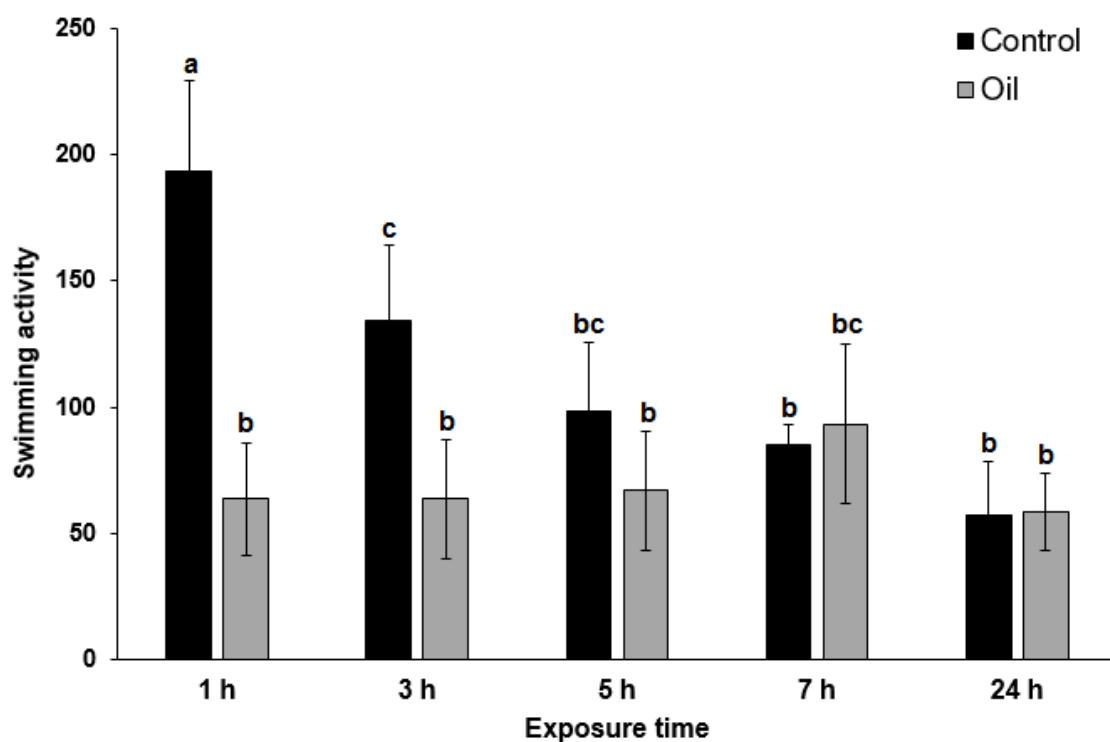


Figure 1. Swimming activity of *Aedes aegypti* larvae incubated during 1, 3, 5, 7 and 24 h with 0.2% (v/v) Tween 80 in distilled water (control) or with the *Syagrus coronata* volatile oil at the LC_{50/48h} (21.07 ppm). The bars represent the mean of the pixels detected by the software during 15 min. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

Fonte: A autora (2016)

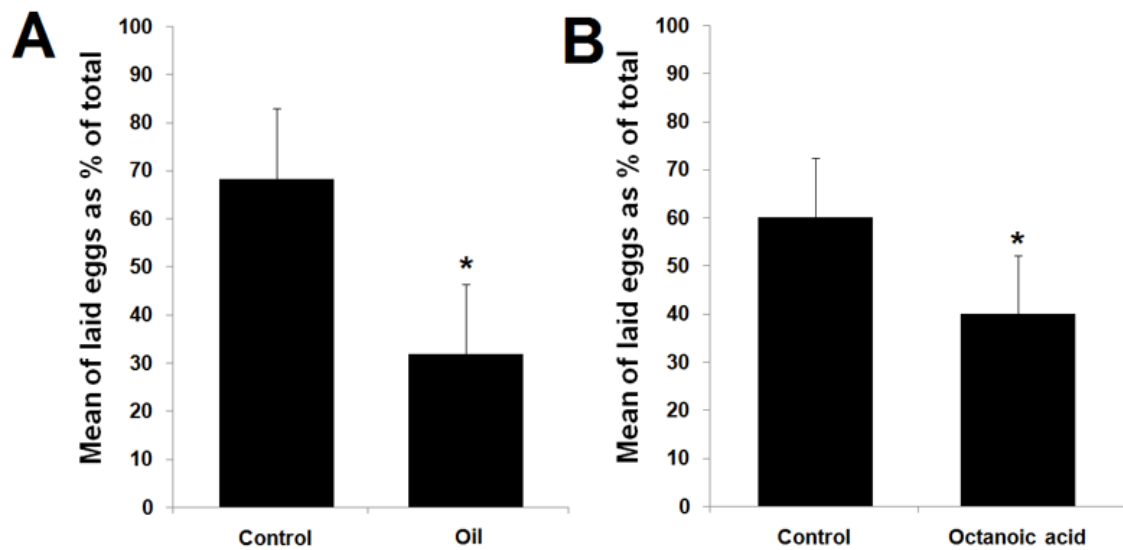


Figure 2. Effect of *Syagrus coronata* volatile oil (A) and octanoic acid (B), both at 50 ppm, oviposition by *Aedes aegypti*. The bars represent the percentage correspondent to the mean of eggs laid by females in control (0.2%, v/v, Tween 80 in distilled water) and test solution. The oviposition response was evaluated by double-choice bioassays (“control vs. oil”, “control vs. octanoic acid”) performed separately. (*) indicates significant difference ($p < 0.05$) in comparison with control.

Fonte: A autora (2016)

5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de sementes de *S. coronata* foi capaz de promover morte de larvas de *A. aegypti* e exercer efeito deterrente sobre as fêmeas grávidas. A atividade larvicida está relacionada a um efeito sinérgico entre os componentes do óleo e o efeito deterrente de oviposição está provavelmente ligado à presença dos ácidos octanóico e decanóico, que correspondem a 57,94% da composição do óleo extraído.

REFERÊNCIAS

ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS. **Doenças negligenciadas** Ciência e tecnologia para o desenvolvimento nacional. Estudos estratégicos Rio de Janeiro 2010. Disponível em: <<http://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-199.pdf>> Acesso em: Julho de 2016.

ALMEIDA, A. P. G. OS MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) E A SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA EM PORTUGAL Desafios para o Século XXI **Acta Media Portuguesa**; Vol. 24 p. 961-974, 2011.

ALVES W. C. L.; GORAYE, I.; GOELDI S. E., LOUREIRO E. C. B. Bactérias isoladas de culicídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos em Belém, Pará, Brasil **Revista Pan-Amaz Saude**; Vol. 1 p. 131-142, 2010.

ANAMO, Z. e BARAKI, N. **Medical Entomology**. Ethiopia Public Health Training Initiative Ethiopia Ministry of Health, and the Ethiopia Ministry of Education, 2008.

BAKKALI, F, AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food Chemical Toxicology** Vol. 46 p. 446–75. 2008.

BARATA E. A. M. F., COSTA A. I. P, F. CHIARAVALLLOTI-NETO; GLASSER C. M., BARATA J. M. S. NATAL D. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil *Aedes aegypti* (L.) population in an endemic area of dengue in the Southeast Brazil **Revista de Saúde Pública** Vol. 35 p. 237-42, 2001.

BASER, K. H. C. Buchbauer, G. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. **CRC Press**, 2010.

BECKER, N.; Petric, D.; Zgomba, M.; Boase, C.; Madon, M.; Dahl, C. Kaiser, A. **Mosquitoes and their control**. 2. ed. Springer, Heidelberg, 2010.

BELVISO, S., GHIRARDELLO, D., GIORDANO, M., RIBEIRO, G. S., ALVES, J. S., PARODI, S., RISSO, S., ZEPPA, G. Phenolic composition, antioxidant capacity and volatile compounds of licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) fruits as affected by the traditional roasting process. **Food Research International**, vol. 51, p. 39-45, 2013.

BESERRA E. B, FERNANDES, C. R M, SOUSA, J. T., FREITAS E. M., SANTOS, K. D. Efeito da Qualidade da Água no Ciclo de Vida e na Atração para Oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) **Neotropical Entomology** Vol. 39 p. 1016-1023 2010.

BESERRA, E. B., FREITAS, E. M.; SOUZA J. T.; FERNANDES, C. R. M. SANTOS K. D. Ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características **Série Zoologia**. Porto Alegre, Vol. 99 p. 281-285, setembro 2009

BIZZO H. R. et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas **Química Nova**, V. 32, N. 3, p. 588-594, 2009

BORKENT, A.; GRIMALDI, D.A. The earliest fossil mosquito (Diptera: Culicidae), in mid-Cretaceous amber. **Annals of the Entomological Society of America**, V. 97, p. 882–888, 2004

BOWLES, E.J. **The Chemistry of Aromatherapeutic Oils**; Ed. 3. Griffin Press. 2003

BOYCE R.; LENHART, A.; KROEGER, A.; VELAYUDHAN, R.; ROBERTS, B.; HORSTICK,.; O. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review. **Tropical Medicine International Health**. Vol. 18 p. 564–577, 2013.

CAMARA, L. T. N.; URBINATTI, P. R., CHIARAVALLOTI-NETO, F. Encontro de *Aedes aegypti* em criadouro natural de área urbana, **Revista de Saúde Pública**; Vol. 50 p.1-4, 2016

CAMPOS G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Disease**. Vol. 21. P. 1885-1886, 2015

CASTRO. F. P.; Martins W. F. S., Lucena M. L.; Almeida R. P.; Beserra E. B. Ciclos de vida comparados de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) do semiárido da Paraíba **Série Zoologia**. Vol.103 p. 118-123, 2013

CATALOGUE OF LIFE. Catalogue of Life: 2010 Annual Checklist. Indexing the world's known species, 2010. Disponível em: <<http://www.catalogueoflife.org/>>

CAVALCA, P. A. M. Homeopathic and Larvicide Effect of *Eucalyptus cinerea* Essential Oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives of Biology and Technology** July-August 2010 Vol.53, n. 4: pp.835-843

CAVALCANTI, L. P. G. PONTES R. J. S.; REGAZZI A. C. F.; JÚNIOR F. J. de P.; FRUTUOSO R. L.; SOUSA E. P.; DANTAS FILHO F. F.; LIMA J. W. de O. Competência de peixes como predadores de larvas de *Aedes aegypti*, em condições de laboratório. **Revista Saúde Pública**., vol.41, n.4, pp.638-644, 2007.

Centers for Disease Control and Prevention Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever Information for Health Care Practitioners 2009 Disponível em:

<https://www.cdc.gov/dengue/resources/Dengue&DHF%20Information%20for%20Health%20Care%20Practitioners_2009.pdf>

Centers for Disease Control and Prevention Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Puerto Rico 2009. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dengue>>

CICCARELLI, D.; GARBARI, F.; PAGNI, A.M. The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): Secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. **Flora**, Vol.203, p. 85-93. 2008

COSTA Z. G. A. ROMANO A. P. M. ELKHOURY A. N. M. FLANNERY B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil **Revista Pan-Amazônica de Saude**; Vol. 2 p.11-26, 2011

COSTA, J. R. V., ROSSI J. R., MARUCCI S. C., ALVES E. C. C., VOLPE H. X. FERRAUDO L., A. S., M. LEMOS V. F. Atividade Tóxica de Isolados de *Bacillus thuringiensis* a Larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) **Neotropical Entomology** Vol.21 p. 757-766, 2010

CREPALDI, I. C.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C.; SALATINO, A. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, v.24, n. 2, 2001

DEMIRCI, B.; TSIKOLIA M; BERNIER U. R.; AGRAMONTE N. M.; ALQASOUMI, S. I.; AL-YAHYA M. A.; AL-REHAILY, A. J., YUSUFOGLU, H. S, DEMIRCI F, BAŞER K H,KHAN I A, TABANCA N. Phoenix dactylifera L. spathe essential oil: Chemical composition and repellent activity against the yellow fever mosquito **Acta Tropica** Vol. 128 p. 557– 560, 2013

DIAS, L. B. A., ALMEIDA, S. C.L. Haes, T. M.de,5, MOTA, L. M., RORIZ-FILHO, J. S. Dengue: transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. **Medicina** Vol. 43 p. 143-152, 2010

DJILANI A. E DICKO, A. The Therapeutic Benefits of Essential Oils, Nutrition, WellBeing and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), 2012 ISBN: 978-953-51-0125-3, InTech, Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/the-therapeutic-benefits-of-essential-oils>>

DONALÍSIO M. R. e GLASSER C. M. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue **Revista Brasileira Epidemiologia**. Vol. 5, Nº 3, 2002

DRUMOND, M. A. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) **Embrapa** Semi-Árido, setembro 2007. Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/152644/1/SDC199.pdf>> Acesso em: julho de 2016

FAGBAMI AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. **Journal of hygiene (lond)**. Oct; Zika virus outbreak Vol. 83 p.213-219, 1979

FERREIRA, K. V., ROCHA K. C., CAPUTTO, L. Z., FONSECA A. L. A., AFFONSO F. F. L. Histórico da febre amarela no Brasil e a importância da vacinação anti-amarela **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v.36, n.1, p. 40-47, 2011

FIGUEIREDO L. T. M. Febres hemorrágicas por vírus no Brasil **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Vol. 39 p. 203-210, 2006

FOSTER W. A.; WALKER E. D. Mosquitoes (Culicidae). In: Mullen, G., Durden, L. **Medical and Veterinary Entomology**, San Diego, Vol. 597 p. 203-262. 2002

FRANCO O. A história da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1969. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/0110historia_febre.pdf> Acesso em: julho de 2016

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA) Controle de vetores e procedimentos de biossegurança ed. 1 novembro 2001 Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/controle_vetores.pdf> Acesso em: julho 2016

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA) Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. - 3. ed., rev. - Brasília : Ministério da Saúde : Fundação Nacional de Saúde, 2001.

FURTADO, R. F. Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) **Neotropical Entomology** Vol. 34 p. 843-847, 2005

GILL H. K. GARG H. **Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies** Intech Florida USA 2014

GULLAN, P. L. e CRASTON, P. S. Os insetos: um resumo de entomologia. 3. Ed. São Paulo: Roca, 2008

GUZMAN M. G. HALSTEAD S B.; ARTSOB H , BUCHY P.; FARRAR J.; GUBLER ; HUNSPERGER, E. KROEGER A. MARGOLIS H. S.; Martínez E.; Nathan M. B.; Pelegriño J. L. ,* Simmons C.; Yoksan S., Peeling R. W. Dengue: a continuing global threat Published in final edited form as **Nature Reviews Microbiology**. Vol. 8 p. 7–16, 2010

HARBACH, R. E. TheCulicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny Vol. 1668 p. 591–638 **Zootaxa** 2007

JOÃO P. BURINI, Disponível em: primalshutter.com Acesso em: Julho 2016

KNAAK N.; FIUZA L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos **Neotropical Biology and Conservation** v. 5 n. 2 p. 120-132, maio/agosto 2010

KRAEMER, M. U. G. Sinka, M. E.; Duda, K. A. Mylne, A. Q. N.; Shearer, F. M.; Barker, C. M.; Moore, C. G.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E.; Bortel, W. V.; Hendrickx, G.; Schaffner, F.; Elyazar, I. R. .F.; Teng, H.; Brady, O. J.; Messina, J. P.; Pigott, D. M.; Scott, T. W.; Smith, D. L.; Wint, G. R. W.; Golding, N.; Hay, S. I. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus* Vol. 8347 p. 1-18 **eLife**, 2015

LIMA V. P.; SERRA A. L. Analise morfológica comparada da venacao de asas da ordem Diptera (Linnaeus, 1758 –Arthropoda, Insecta) Morphologic comparative analysis of wing venation of order Diptera (Linnaeus, 1758 – Arthropoda, Insecta) **ConScientia e Saúde** Vol. 7 p. 525-533. 2008

LUZ, K. G.; SANTOS, G. I. V.; VIEIRA, R. M. Febre pelo vírus Luz **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, Vol. 24 p. 785-788, 2015

MANRIQUE-SAIDE P., CHE-MENDOZA A., BARRERA-PEREZ M., GUILLERMO-MAY G., HERRERA-BOJORQUEZ J., DZUL-MANZANILLA F., GUTIERREZ-CASTRO C., LENHART A., VAZQUEZ-PROKOPEC G., SOMMERFELD J., MCCALL P. J., KROEGER A., ARREDONDO-JIMENEZ J. I. Use of Insecticide-Treated House Screens to Reduce Infestations of Dengue Virus Vectors, Mexico. **Emerging Infectious Diseases** Vol. 21, p.308-311, 2015

MARICOPA COUNTY ENVIRONMENTAL SERVICES.. Lifecycle and information on *Aedes aegypti* mosquitoes. Maricopa County, 2006. Disponível em: <<http://www.maricopa.gov/EnvSvc/VectorControl/Mosquitos/MosqInfo.aspx>> Acesso em: julho de 2016.

MANZOOR F., SAMREEN K. B. e PARVEEN Z. Larvicidal Activity of Essential Oils Against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae (DIPTERA: CULICIDAE) **The Journal of Animal & Plant Sciences** Vol. 23 p.420-424, 2013

MEHBOOB M., NOREEN S., AMIR F. N. R.; MOBIN T. Dengue: Areview on disease symptoms, detection and its management. **Journal of Rashid Latif Medical** Vol. 2 p.01-06, 2014

MELLO C. A. B. SANTOS W. P. dos, RODRIGUES M. A.B., CANDEIAS A. L. B., GUSMAO C. M.G.; PORTELA N. M. Automatic counting of *Aedes aegypti* eggs in image of ovitraps. **Recent Advances in Biomedical Engineering** Vol. 6. p. 3103 – 3106, 2009

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde Febre pelo vírus Zika: uma revisão narrativa sobre a doença – Vol. 46, 2015

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Febre de Chikungunya: Manejo Clínico. Brasília 2015 Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância das Doenças. Disponível em: <bvsms.saude.gov.br>. Acesso em: julho 2016

MOHAMED A. A.; EL-EMARY G. A.; ALI H. F. 2010. Influence of some citrus essential oils on cell viability, glutathione-s-transferase and lipid peroxidation in *Ehrlich* ascites Carcinoma cells. **Journal of American Science** Vol. 6 p. 820–826.

NATAL D. Bioecologia do *Aedes Aegypti* **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.205-207, jul./dez., 2002

NAVARRO, D. M. A. F.; OLIVEIRA P. E. S.; POTTING, R. P. J.; BRITO, A. C.; FITAL S. J. F. The potential attract or repellent effects of different water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Diptera, Culicidae). *J Appl Entomol* V. 127: p. 46-50. 2003

NHAN, T-X.; CAO-LORMEAU, V-M.; MUSSO, D. Les infections à virus Zika. **Rev Francoph Laboratoires** .Vol. 2014. p. 45-52. 2014

NOBLICK, L. R. Palmeiras das caatingas da Bahia e as potencialidades economicas. 1986.

NOGUEIRA R. M. R. MIAGOSTOVICH M. P. SCHATZMAYR H. G. 1 Molecular epidemiology of dengue viruses in Brazil **Caderno Saúde Pública**, Vol. 16 p. 205-211, 2000

OEHLER E.; WATRIN L.; LARRE P.; LEPARC-GOLFRT I.; LESTÈRE S.; VALOUR F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome: case report, French Polynesia, **Euro Surveill**. Vol. 19. P. 1-3, 2014

OLIVEIRA, G. L., CARDOSO S. K., LARA C.. R., VIEIRA, T. M. GUIMARÃES , E. F., FIGUEIREDO, L. S., MARTINS, E. R., MOREIRA, D. L.; KAPLAN M. A. C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae) **Anais da Academia Brasileira de Ciências** Vol. 85 p. 1227-1234, 2013

P.R. DALZOTO; K.F. UHRY Controle Biológico de Pragas no Brasil por Meio de *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. **Biológico**, Vol. 71, p. 37-41, 2009

PARIS, M.; TETREAU, G.; LAURENT, F.; LELU, M.; DESPRES, L.; DAVID, J. P. Persistence of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) in the environment induces resistance to multiple Bti toxins in mosquitoes **Pest Manag Sci**. Vol. 67 p. 122-128. 2011.

PEREIRA Á. I. S., PEREIRA A. DA G. S., SOBRINHO O. P. L., CANTANHEDE E. DE K. P., SIQUEIRA L. F. S. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol **Comunicação Saúde Educação** v.12, n.25, p.442-51, abr./jun. 2008

QUEYRIAUX B, SIMON F, GRANDADAM M, MICHEL R, TOLOU H, BOUTIN JP. Clinical burden of chikungunya virus infection. **Lancet Infectious Disease**; Vol. 8:2–3; 2008

RODRIGUES, I. A., ALVIANO, D. S., GOMES, M. T., SILVA, D. O., ANTONIASSI, R., SILVA, A. J. R., BIZZO, H. R., ALVIANO, C. S., VERMELHO, A. B., ROSA, M. S. S. In vitro anti-*Leishmania amazonensis* activity of the polymeric procyanidin-rich aqueous extract from *Syagrus coronata*. **Journal of Medicinal Plants Research**, vol. 5, p. 3781-3790, 2011.

RUEDA, L.M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. *Hydrobiologia*, **Developments in Hydrobiology** Vol. 198 p. 477-487 2008

RUFINO M. U. L. COSTA, J. T. M., SILVA V. A. ANDRADE, L. de H. C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil **Acta Botanica Brasílica**. Vol. 22 p. 1141-1149, 2008

RUPPERT, E. E., FOX, R. S., BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 7ed. São Paulo: Roca, 2005.

SAMUEL PP, TYAGI BK. Diagnostic methods for detection & isolation of dengue viruses from vector mosquitoes. **Indian Journal Medical Research** 123: 615-628, 2006

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Vol.34, p.3-21.

SANTOS C. H. B. Rendimento do óleo essencial de mentha piperita Cultivada nas condições do município de santo antônio de JESUS / BA. XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Bahia 2009

SANTOS, G. K. N. DUTRA K. A.; LIRA C. S.; LIMA B. N.; NAPOLEÃO T. H., PAIVA P. M.; MARANHÃO C. A., BRANDÃO, S. S.; NAVARRO D. M. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity **Molecules**, Vol. 19 p. 16573-16587, 2014

SCOTT TW, AMERASINGHE, P. H.; MORRISON, A. C.; LORENZ L. H.; CLARK G. G.; STRICKMAN, D. KITTAYAPONG, P.; Edman J. D. Longitudinal studies of *Aedes*

aegypti (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. **Journal Medicine Entomology** Vol. 37 p.77–88. 2000.

SHAPSHAK P., SOMBOONWIT C., FOLEY B. T., ALRABA S. F., WILLS T.; SINNOTT J. T. Zika Virus **Spring Science** p. 477-479; 2015.

SHULSE C. D., SEMLITSCH R. D., TRAUTH K. M. Mosquito fish dominate amphibian and invertebrate community development in experimental wetlands. **Journal of Applied Ecology** Vol. 50 P. 1244–1256, 2013.

SIANI A. C.; SAMPAIO A. L. F.; SOUSA M.C.; HENRIQUES M. G. M. O. RAMOS M. F. S. Óleos Essenciais Potencial Anti-Inflamatório **Revista de biotecnologia ciência e desenvolvimento** Ano 3 nº16 outubro 2000.

SILVA, I. R. F. FRONTERA J. A, NASCIMENTO. O. J. M. News from the battlefield: Zika virus–associated Guillain-Barré syndrome in Brazil. **Neurology**. V. 87 N. 15 p.180-181, October 2016.

SILVA, V.A.; ANDRADE, L.H.C. & ALBUQUERQUE, U.P. Revising the Cultural Significance index: The Case of the Fulni-ô in Northeastern Brazil. **Field Methods** Vol. 18 p. 98-108. 2006.

SINGHI S.; KISSOON N.; BANSAL, A. Dengue e dengue hemorrágico: aspectos do manejo na unidade de terapia intensiva. **Jornal de Pediatria** Vol. 38 p. 22-35 2007

SISSOKO D, MOENDANDZE A, MALVY D, GIRY C, EZZEDINE K, SOLET JL. Seroprevalence and risk factors of chikungunya virus infection in Mayotte, Indian Ocean, 2005–2006: a population-based survey. **PLoS ONE**; Vol. 3. p. 2005-2006. 2008

SOUZA S. A. M.; MEIRA M. R.; FIGUEIREDO L. S.; MARTINS E. R. ÓLEOS ESSENCIAIS: ASPECTOS ECONÔMICOS E SUSTENTÁVEIS **Enciclopédia Biosfera**, Vol.6 P. 1-11, 2010

TEIXEIRA L. A. Da transmissão hídrica a culicidiana: a febre amarela na sociedade de medicina e cirurgia de São Paulo. **Revista Brasileira História**.;Vol. 21 p.217-242. 2001

TEIXEIRA, M. da G. BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e Medidas de Prevenção do Dengue Dezembro, Vol. 8 p. 5-33 1999

TILAK, R.; GUPTA, M. V.; SURYAM, M. V.; YADAV, J. D. & GUPTA, B. K. K. D.. A laboratory investigation into oviposition responses of *Aedes aegypti* to some common household substances and water from conspecific larvae. **Medical Journal Armed Forces India** Vol. 61 p. 227-229, 2004

TRIPATHI A. K., UPADHYAY, S., BHUIYAN M. BHATTACHARYA, P. R. A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy** Vol. 1 p. 000-000, 2009

TUN-LIN, W., BURKOT T. R., KAY B. H. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. **Med Vet Entomol** Mar; Vol. 14 p. 31-37, 2000.

VAREJÃO, J. B. M.; SANTOS, C. B. DOS; REZENDE, H. R.; BEVILACQUA, L. C. & FALQUETO, A. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Vol. 38 p. 238-240. 2005

VASCONCELOS, P. F. da C. Febre amarela: artigo de revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Vol. 2 p. 275-293, 2003

WERMELINGER, E. D. FERREIRA, A. P. HORTA M. A. The use of modified mosquitoes in Brazil for the control of *Aedes aegypti*: methodological and ethical constraints **Cad. Saúde Pública** Vol.30 p. 2259-2261, 2014

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE 2016 Disponível em: <http://www.who.int/denguecontrol/en/> Acesso em: 10 de julho de 2016

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control -- 2009 Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44188/1/9789241547871_eng.pdf Acesso em: julho 2016

WORLD HEALTH ORGANIZATION Doença do vírus Zika Janeiro de 2016 Disponível em: <http://www.who.int/> Acesso em: 03/07/2016

YUEN C. K. Feeding habits of mosquitoes Assistant Pest Controller Issue No. 10 April 2008. Disponível em: http://www.fehd.gov.hk/english/safefood/images/Pestnews_10e.pdf Acesso em: julho de 2016

ZANLUCA C, MELO VCA, MOSIMANN ALP, SANTOS GIV, SANTOS CND, LUZ K. The first report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. Jun;Vol. 110 p. 569-572. 2015

ZARA A. L. DE S. A.; SANTOS S. M. E.; FERNANDES-OLIVEIRA S. CARVALHO R. G. COELHO G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão **Epidemiol. Serv. Saude** Vol. 25:p. 391-404, 2016

ZETTEL, C.; KAUFMAN P. 2009 **Yellow fever mosquito *Aedes aegypti*** (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Culicidae). Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/>> Acesso em: 18 abril 2016

ZHU F.; LAVINE L.; O'NEAL S.; LAVINE M.; FOSS C. WALSH D. Insecticide Resistance and Management Strategies in Urban Ecosystems **Insects**, Vol. 7 p. 1-26, 2016