

PUBLIC HEALTH

Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L.
(Diptera: Culicidae)ROSELAYNE F. FURTADO¹, MARIA G.A. DE LIMA², MANOEL ANDRADE NETO³, JOSÉ N.S. BEZERRA³ E
MARIA G. DE V. SILVA⁴¹Depto. Fitotecnia, roselayneff@hotmail.com; ³Depto. Química Orgânica e Inorgânica; ⁴Depto. Química Analítica e Físico-Química. Universidade Federal do Ceará. C. postal 12200, 60.021-970, Fortaleza, CE²Coordenação de Biologia, Universidade Estadual do Ceará. Av. Paranjana, 1700, 60.740-000, Fortaleza, CE.

Neotropical Entomology 34(5):843-847 (2005)Larvicidal Activity of Essential Oils against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)

ABSTRACT - In the search for alternative chemical control against *Aedes aegypti* L., many researches are developed and encouraged in order to find new insecticidal plant substances. In this work, the larvicidal effect of ten essential oils was tested on *A. aegypti*. The oils were extracted by steam distillation and their chemical composition determined by GL-chromatography coupled with mass spectroscopy. The essential oils were diluted in aqueous solutions of dimethyl sulfoxide with concentrations of: 100, 50, 10, and 1 mg/ml. The larvicidal activity, based on the percentage of larval mortality, was evaluated after 24h exposure to the treatments. The essential oil of *Vanillosmopsis arborea* Baker presented the highest larvicidal activity, with CL₅₀ of 15.9 mg/ml and CL₉₀ of 28.5 mg/ml. On the other hand the essential oil of *O. gratissimum* L. showed the lower activity with CL₅₀ de 95,80 mg/ml and CL₉₀ de 102,86 mg/ml. The results indicate that the tested essential oils, and particularly the *V. arborea*, are composed by substances with larvicidal properties for *A. aegypti*.

KEY WORDS: Dengue, plant extract, control, mosquito

RESUMO - Na busca por controle químico alternativo contra *Aedes aegypti* L., muitas pesquisas são desenvolvidas e estimuladas no intuito de se descobrirem novas substâncias inseticidas de origem vegetal. Neste trabalho, o efeito larvicida de dez óleos essenciais foi avaliado contra *A. aegypti*. Os óleos foram obtidos por arraste a vapor e sua composição química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Os óleos essenciais foram diluídos em solução aquosa de dimetil sulfoxido nas concentrações: 100, 50, 10 e 1 mg/ml. A atividade larvicida, baseada na percentagem de larvas mortas, foi avaliada 24h após o tratamento. O óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker induziu a maior atividade larvicida, com CL₅₀ de 15,9 mg/ml e CL₉₀ de 28,5 mg/ml., enquanto o de *O. gratissimum* L. apresentou a menor atividade com CL₅₀ de 95,80 mg/ml e CL₉₀ de 102,86 mg/ml. Os resultados indicam que os óleos essenciais avaliados, principalmente o de *V. arborea*, são compostos por substâncias com efeito larvicida contra *A. aegypti*.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue extrato de planta, controle, mosquito

A dengue, infecção viral transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, é considerada uma das maiores preocupações mundiais de Saúde Pública. A enfermidade apresenta ampla incidência nos países tropicais e subtropicais, e estima-se que aproximadamente 1,3 bilhão de pessoas estejam em risco de serem infectadas com o vírus da dengue (WHO 2004).

O mosquito *Aedes aegypti* L. é o principal inseto-transmissor da dengue nos países tropicais. Nas Américas, é responsável por freqüentes epidemias e a circulação dos

quatro sorotipos do vírus no continente (WHO 1997).

Na tentativa de manter a incidência da enfermidade sob controle, são destinadas, continuamente, quantias significativas de recursos para programas contra o vetor, porém surtos de epidemias são freqüentes. Esse fato decorre de fatores relacionados à biologia e ao comportamento do vetor, somados a problemas típicos dos centros urbanos (Gadelha & Toda 1985, Ishak 1987, Marzochi 1994, Monath 1994).

O controle do culicídeo utilizando inseticidas, como

temephos, *malathion* e *fenitrothion*, constituem a principal medida adotada pelos Programas de Saúde Pública. Entretanto, em diferentes partes do mundo (Rawlins & Wan 1995, Wirth & Georghiou 1999) e no Brasil (Macoris et al. 2003), tem sido registrada resistência desse díptero aos inseticidas convencionais.

Tendo em vista a grande diversidade de vegetais existente no Brasil, de um total estimado entre 350 e 550 mil espécies (Sandes & Blasi 2000), estudos a partir de extratos vegetais surgem com a expectativa de se encontrarem substâncias com propriedades inseticidas e simultaneamente seletivas para serem usadas em futuras formulações de um produto comercial.

Diversos estudos comprovam a atividade de extratos vegetais contra diferentes espécies de mosquitos (Daharam Shaktu & Menon 1983, Consoli et al. 1989, Guimarães et al. 2001) incluindo *A. aegypti* (Angerilli 1980, Silva et al. 2004). O presente trabalho tem como objetivo determinar o potencial larvicida de espécies de plantas na forma de óleo essencial contra larvas de *A. aegypti*.

Para isso, foram selecionadas plantas encontradas no Ceará, em função de as mesmas apresentarem pelo menos uma das seguintes características: a) atribuições de propriedades repelentes segundo credence popular, b) ação inseticida (Laurent et al. 1998, Rao & Subrahmanyam 1999) e c) atividade terapêutica (Matos 1994), neste caso possuindo a vantagem de serem benéficas ao homem.

Material e Métodos

Espécies Vegetais. Folhas das espécies de: *Ageratum conyzoides* L., *Cymbopogon citratus* Stapf, *Lippia sidoides* Chamisso., *Ocimum gratissimum* L., *O. basilicum purpurascens* Benth, *O. tenuiflorum* L., *Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Tagetes minuta* L. foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ce durante o mês de maio de 2002. Amostras do caule de *Vanillosmopsis arborea* Baker foram obtidas na Chapada do Araripe no município do Crato (Ceará) em julho de 2003, e cascas da fruta do *Citrus limon* L. foram coletadas em agosto de 2003 em Fortaleza. Todo o material recolhido foi conduzido ao Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará e submetido à extração.

Extração e Análise dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em um aparelho do tipo Clevenger, a partir de 1 kg do material selecionado de cada planta. A determinação química dos óleos foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)/Hewlett Packard Modelo 5971, sob as seguintes condições: coluna de dimetilpolissiloxano DB-1 (30 m x 0,25 mm, espessura do filme 0,1 µm), gás de arraste- hélio (com vazão de 1 ml/min), temperatura de injeção -250°C, temperatura do detector -200°C; sendo que as taxas de aquecimento da coluna entre as faixas de 35-180°C e 180-250°C foi de 4°C/min e 10°C/min respectivamente. A identificação dos compostos foi baseada em espectros de massa (EI, 70 eV) comparados com os dados de espectros de massa provenientes de bibliotecas existentes no

equipamento analítico e índices de Kovat. Após a extração, os óleos foram armazenados em geladeira, por até seis meses.

Ensaio. Larvas de 3ª instar de *A. aegypti*, oriundas de criações massais mantidas no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Doenças Endêmicas da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará (NUEND/SESA) foram separadas para a realização dos bioensaios. A colônia de *A. aegypti* foi renovada periodicamente na 4ª geração (ocasião em que ocorriam os testes), com introduções de ovos do inseto coletados em Caucaia e Quixeramobim, CE, durante períodos de grande incidência do mosquito.

Os óleos essenciais foram diluídos em solução aquosa de dimetil sulfóxido 2% (DMSO, *Synth ACS*) nas concentrações: 100, 50, 10, e 1,0 mg/ml. As larvas foram separadas com o auxílio da pipeta de Pasteur e colocadas em papel de filtro para a remoção do excesso de água e posteriormente, distribuíram-se 25 larvas em copos de plástico descartáveis (50 ml) contendo 30 ml das diluições. Como controle utilizou-se água e DMSO 2%.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, seguindo o esquema fatorial 10 x 4 (óleos essenciais x concentrações) totalizando 40 tratamentos e quatro repetições por tratamento, de modo que para cada tratamento utilizaram-se 100 larvas (25 larvas/repetição).

Após 24h de exposição das larvas aos tratamentos, o número de larvas mortas foi registrado sendo consideradas mortas aquelas que não apresentavam movimento ou não respondiam aos estímulos com a pipeta de Pasteur. A temperatura ambiente variou entre 27°C e 30°C.

Análise Estatística. Os dados foram submetidos a análise pelos Modelos Lineares Generalizados, para ajustar a relação de larvas mortas em função das concentrações dos óleos essenciais. Adotou-se um modelo de dose-resposta (Kalbfleisch 1985) segundo o modelo logístico *logit(p)* e um preditor linear na forma:

$$\eta = \ln(p/1-p) = \beta_0 + \beta_1 \ln(C) \quad (1)$$

sendo: *p* a relação de larvas nas concentrações (1, 10, 50 e 100 mg/ml), β_0 e β_1 os coeficientes do modelo de regressão linear nos níveis da concentração e *C* a concentração de óleos essenciais. Os parâmetros do modelo (β_0 e β_1) foram estimados usando o método iterativo proposto por Fisher (Demétrio 2001). A significância do modelo é baseada na estatística *deviance*, sp, (McCullagh & Nelder 1989) e é testada utilizando-se o teste do Qui-quadrado. Os dados foram analisados utilizando o software R (Kuhnert & Venables 2005). A comparação da CL_{50} e CL_{90} dos óleos essenciais foi feita através do intervalo de confiança ao nível de 95% de significância.

Resultados e Discussão

Todos os óleos essenciais testados apresentaram atividade larvicida contra *A. aegypti* (Tabela 1). Na referida tabela, encontram-se também o preditor linear e a *deviance* para cada óleo essencial, obtidos com base nos cálculos citados

Tabela 1. Análise do Preditor linear, logaritmo natural da concentração letal para 50% e 90% das larvas e *deviance* (Sp) dos óleos essenciais sobre as larvas de *A. aegypti*.

Óleos essenciais	Preditor linear ⁽¹⁾	Ln [CL ₅₀] ⁽²⁾ (mg/ml)	ln(CL ₉₀) ⁽²⁾ (mg/ml)	S _p ⁽³⁾
<i>V. arborea</i>	$\eta = -10,36 + 3,74 \ln(C)$	2,77 (2,66; 2,89)	3,35 (3,18; 3,59)	15,34
<i>L. sidoides</i>	$\eta = -140,37 + 36,77 \ln(C)$	3,80 (3,74; 3,85)	3,87 (3,91; 3,92)	17,20
<i>C. winterianus</i>	$\eta = -18,36 + 4,59 \ln(C)$	4,00 (3,94; 4,06)	4,48 (4,39; 4,61)	20,19
<i>A. conyzoides</i>	$\eta = -20,76 + 5,04 \ln(C)$	4,11 (4,04; 4,20)	4,55 (4,44; 4,72)	2,20
<i>C. citratus</i>	$\eta = -16,22 + 3,90 \ln(C)$	4,15 (4,09; 4,22)	4,72 (4,62; 4,86)	24,28
<i>O. basilicum purpurascens</i>	$\eta = -33,31 + 7,92 \ln(C)$	4,20 (4,15; 4,26)	4,48 (4,41; 4,56)	28,84
<i>O. tenuiflorum</i>	$\eta = -20,90 + 4,90 \ln(C)$	4,26 (4,21; 4,32)	4,71 (4,63; 4,81)	32,85
<i>T. minuta</i>	$\eta = -26,35 + 6,15 \ln(C)$	4,29 (4,23; 4,34)	4,64 (4,58; 4,73)	19,12
<i>C. limon</i>	$\eta = -140,87 + 30,88 \ln(C)$	4,56 (4,53; 4,58)	4,63 (4,60; 4,61)	6,39
<i>O. gratissimum</i>	$\eta = -16,38 + 3,52 \ln(C)$	4,67 (4,54; 4,80)	5,71 (5,12; 5,92)	1,00

¹Mortalidade em logit [logit(p)=ln(p/(1-p))]; C é a concentração dos óleos essenciais.

²Logaritmo natural da concentração letal para 50% e 90% das larvas. Os números entre parênteses são referentes ao intervalo de confiança do ln[CL₅₀] e ln [CL₉₀] a 95% de significância.

3- *Deviance* - estatística do teste

na metodologia. Pela sobreposição dos valores do intervalo de confiança, determinado para cada óleo na ln (CL₅₀) e ln (CL₉₀) demonstrados na Tabela 1, é possível comparar o efeito larvicida entre os óleos. Desta forma, os valores estipulados do intervalo de confiança para ln (CL₅₀) e ln (CL₉₀) do óleo essencial de *V. arborea* não estão dentro de nenhum intervalo de confiança dos outros óleos, destacando o seu potencial larvicida em relação aos demais. Essa espécie é popularmente conhecida como candeieiro e na cultura popular lhe são atribuídas propriedades repelentes contra mosquitos. Na literatura, não foram encontrados estudos sobre a sua ação contra *A. aegypti*.

O segundo óleo com maior potencial larvicida foi o de *L. sidoides*, que apresentou CL₅₀ de 45,5 mg/ml e CL₉₀ de 48,3 mg/ml contra as larvas (Tabela 2). A espécie *L. sidoides* é usada na medicina alternativa contra infecções em geral, ferimentos da pele e do couro cabeludo (Matos 1994). Os resultados apresentados estão de acordo com estudos de Carvalho *et al.* (2003), que demonstraram a propriedade larvicida desse óleo essencial. Os autores consideraram o timol, componente principal (Tabela 3), como o princípio ativo tóxico contra larvas de *A. aegypti* e capaz de induzir 100% de mortalidade em 90 min., na concentração 0,017%

(água/ volume).

A espécie *C. winterianus* é conhecida por sua propriedade repelente contra mosquitos e apresentou ln (CL₅₀) de 4 mg/ml e ln (CL₉₀) de 4,5 mg/ml correspondentes a CL₅₀ de 54,7 mg/ml e CL₉₀ de 88,3 mg/ml das larvas (Tabelas 1 e 2). Por sua vez, a planta *C. citratus* é usada na medicina popular para o alívio de cólicas intestinais e como calmante (Matos 2000), e seu óleo embora não tenha sobressaído neste trabalho com CL₅₀ de 63,9 mg/ml e CL₉₀ de 112, 2 mg/ml em outros demonstrou resultados relevantes contra insetos (Rajapakse & van Endem 1997).

O óleo essencial de *A. conyzoides* mostrou ln (CL₅₀) de 4,1 mg/ml e ln (CL₉₀) de 4,5 mg/ml equivalentes a CL₅₀ de 61 mg/ml e CL₉₀ de 95 mg/ml (Tabela 3). Estudos de Macêdo *et al.* (1997), usando o extrato etanólico desta planta, apresentaram mortalidade de 50% das larvas de *Aedes fluviatilis* Lutz, na concentração de 100 ppm. No entanto, esses resultados podem indicar maior atividade da planta contra *A. aegypti* ou que algum componente químico do óleo seja mais eficiente que os contidos no extrato etanólico de *A. conyzoides*.

O óleo essencial de *O. basilicum purpurascens* apresentou CL₅₀ de 67 mg/ml, atividade maior que o relatado

Tabela 2. Concentrações letais para 50% e 90% das larvas de 3ª instar de *A. aegypti*.

Óleos essenciais	CL ₅₀ (mg/ml)	CL ₉₀ (mg/ml)
<i>V. arborea</i>	15,91	28,59
<i>L. sidoides</i>	45,49	48,29
<i>C. winterianus</i>	54,69	88,29
<i>A. conyzoides</i>	61,55	95,19
<i>C. citratus</i>	63,89	112,21
<i>O. basilicum purpurascens</i>	66,95	88,36
<i>O. tenuiflorum</i>	71,27	111,61
<i>T. minuta</i>	72,85	104,17
<i>C. limon</i>	95,80	102,86
<i>O. gratissimum</i>	104,58	195,14

para linalool, composto em maior porcentagem do óleo (CL₅₀ de 100 ppm) (Simas et al. 2004), indicando a possibilidade de outros compostos serem responsáveis pela atividade larvicida do óleo essencial ou ainda a existência de um sinergismo entre o linalool e outro(s) componente(s) do óleo.

Apesar de Simas et al. (2004) encontrarem para o eugenol a CL₅₀ de 44,5 ppm contra *A. aegypti*, os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. tenuiflorum*, ricos em eugenol (54,0% e 59,4%, respectivamente) mostraram CL₅₀ de 104,6 mg/ml e 71,3 mg/ml respectivamente. O óleo essencial de *O. gratissimum* apresentou a menor atividade larvicida entre todos os óleos testados.

Para *T. minuta* obteve-se CL₅₀ e CL₉₀ de 72,85 e 104,17 mg/ml respectivamente contra as larvas, valores inferiores

Tabela 3. Componentes principais dos óleos essenciais das plantas.

Espécies	Componente principal
<i>A. conyzoides</i>	Precocene (62,6%)
<i>C. limon</i>	Limoneno
<i>C. citratus</i>	Neral (63,6%)
<i>C. winterianus</i>	Citronelal
<i>L. sidoides</i>	Thymol (73,1%)
<i>O. basilicum purpurascens</i>	Linalool (81,5%)
<i>O. gratissimum</i>	Eugenol (54,0%)
<i>O. tenuiflorum</i>	Eugenol (59,4%)
<i>T. minuta</i>	Dihydrotagetone (91,5%)
<i>V. arborea</i>	Alfa-bisabolol

Os valores entre parênteses são referentes à porcentagem dos principais componentes dos óleos essenciais.

aos relatados em trabalhos realizados anteriormente. Macêdo et al. (1997) constataram CL₅₀ de 1,5 ppm e CL₉₀ de 1 ppm utilizando extrato etanólico das partes aéreas dessa planta contra larvas de 4ª instar de *A. fluviatilis*. Frações do extrato floral da planta mostraram CL₅₀ de 3,9 ppm contra larvas de 3ª instar de *A. aegypti* (Perich et al. 1995). Esses resultados demonstram que substâncias com potenciais inseticidas podem se concentrar em diferentes partes da planta.

O óleo essencial de *C. limon*, conhecido popularmente como limão, cujo constituinte principal é o limoneno, apresentou CL₅₀ e CL₉₀ de 95,8 mg/ml e 102,7 mg/ml, respectivamente. Esses resultados concordam com os de Lamiri et al. (2001) que demonstraram a atividade ovicida de óleos essenciais do gênero *Citrus* contra o díptero *Mayetiola destructor* Say. No entanto diferem dos altos valores encontrados por Cavalcanti et al. (2004), utilizando o óleo essencial de *Citrus limonia* Osbeck (limão-cravo) (CL₅₀ de 519 ppm) contra larvas de 3ª de *A. aegypti*.

Assim, todos os óleos essenciais apresentaram atividade larvicida contra *A. aegypti*. No entanto, o óleo essencial de *V. arborea* apresentou o maior efeito contra as larvas, enquanto o de *O. gratissimum* demonstrou a menor atividade.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Cearense de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e ao CNPq pelo apoio financeiro, e à Secretaria da Saúde do Estado do Ceará pelo espaço concedido para o desenvolvimento da colônia de *A. aegypti*, assim como ao suporte dado ao longo da pesquisa.

Literatura Citada

- Angerilli, N.P.D. 1980. Influences of extracts of fresh water vegetation on the survival and oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Can Entomol. 112: 1249-1252.
- Carvalho, A.F.U., V.M.M. Melo, A.A. Craveiro, M.I.L. Machado, M.B. Bantim & E.F. Rabelo. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 98: 569-571.
- Cavalcanti, E.S.B., S.M. Morais, M.A. Lima & E.W.P. Santana. 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*. L. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99: 541- 544.
- Consoli, R.A.G.B., N.M. Mendes, J.P. Pereira, B.S. Santos & M.A. Lamounier. 1989. Influence of several plant extracts on the oviposition behaviour of *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) in the laboratory. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 84: 47-51.
- Daharam Shaktu N.S. & P.K.M. Menon. 1983. Larvicidal property of three species of genus *Agave* (Fam: Amaryllidaceae) J. Commun. Disorders 15: 135-137.

- Demétrio, C.G.B. 2001.** Modelos lineares generalizados em experimentação agrônoma, 9^o SEAGRO e 46^a RBRAS. do Brasil. Fortaleza, Edições UFC, 2^a ed., 346p.
- Gadelha D.P. & A.T. Toda. 1985.** Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. Rev. Bras. Malariol. 37: 29-36.
- Guimarães, V.P., I.G. da Silva, H.H.G da Silva & C. Rocha. 2001.** Atividade larvicida do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae). Rev. Patol. Trop. 30: 243-249.
- Ishak, R. 1987.** Dengue: Aspectos clínico, epidemiológico, laboratorial e de profilaxia. Bras. Med. 24: 5-10.
- Kalbfleisch, J.G. 1985.** Probability and statistical inference. Statistical inference. Springer-Verlag, New York, v. 2, 360p.
- Kuhnert P. & B. Venables. 2005.** An introduction to R: Software for statistical modelling & computing. Course exercise. Csiro Mathematical and Information Sciences. Cleveland, 50p.
- Lamiri, A, S. Lhaloui, B. Benjilali & M. Berrada. 2001.** Insecticidal effects of essential oils against Hessian Fly *Mayetiola destructor* (Say). Field Crops Res. 71: 9-15.
- Laurent, D., A. Vilaseca, J.M. Chantraine, C. Ballivan, G. Saavedra & R. Ibañez. 1998.** Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. Phytother. Res. 11: 285-290.
- Macêdo, M.E., R.A.G.B. Consoli, S.M.T. Grandi., A.M.G. Anjos, A.B. Oliveira, N.M. Mendes, R.O. Queiroz & C.L. Zani. 1997.** Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 92: 565-570.
- Macoris, M.L.G., M.T.M. Andrighetti, L. Takaku, C.M. Glasser, V.C. Garbeloto & J.E. Bracco. 2003.** Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 98: 703-708.
- Marzochi K.B.F. 1994.** Dengue in Brazil- Situation, transmission and control - a proposal for ecological control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 89: 235-245.
- Matos, F.J. 1994.** Fármacias vivas: Sistema do uso de plantas medicinais direcionadas para pequenas comunidades. Fortaleza, Edit. UFC, 3^a ed., 180p.
- Matos, F.J. 2000.** Plantas medicinais. Guia de seleção e emprego das plantas usadas na fitoterapia no Nordeste
- Mccullagh, P. & J.A. Nelder. 1989.** Generalized linear models, Chapman and Hall, 2^a ed., Londres, 511p.
- Monath, T.P. 1994.** Dengue: The risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci USA 91: 2395-2400.
- Perich, M.J., C. Wells, W. Bersch & K.E. Tredway. 1995.** Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. J Am. Mosq. Control Ass. 11: 307-310.
- Rajapakse, R. & H.F. van Endem. 1997.** Potential of vegetable oils and tem botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. J. Stored Prod. Res. 33: 59-68.
- Rao, P. J. K., M. Kumar, S. Singh & B. Subrahmanyam. 1999.** Effect of *Artemisia annua* oil on development and reproduction of *Dysdercus koenigii* F. (Hem., Pyrrhocoridae). J. Appl. Entomol. 123: 315-318.
- Rawlins, S. & J.O.H. Wan. 1995.** Resistance in some Caribbean population of *Aedes aegypti* to several insecticides. J. Am. Mosq. Control 11: 59-65.
- Sandes, A.R.R. & G. Blasi. 2000.** Biodiversidade química e genética. Biotec. Ciê. Des. 13: 28-37.
- Silva, H.H.G. da, I.G. da Silva, R.M.G. dos Santos, E.R. Filho & C.N. Elias. 2004.** Larvicidal activity of tannins isolated of *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 37: 396-399.
- Simas, N.K., E.C. Lima, S.R. Conceição, R.M. Kuster & F.A.M. Oliveira. 2004.** Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. Quím. Nova 27: 46-49.
- Wirth, M.C. & G.P. Georghiou. 1999.** Selection and characterization of temephos in a population *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Island. J. Am. Mosq. Control Assoc. 15: 315-320.
- World Health Organization. 1997.** Dengue bulletin: Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever: A global public health problem in the 21st century.
- World Health Organization. 2004.** Dengue bulletin: Situation of dengue/dengue haemorrhagic fever in SEA countries.

Received 23/XI/04. Accepted 21/VI/05.