

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FILIFE APOLINÁRIO DOS ANJOS

Avaliação da atividade de oviposição e fisiologia reprodutiva de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762) (Diptera, Culicidae) em solução de *Carica papaya* (LINNAEUS, 1753) (Caricaceae)

CURITIBA

2015

FILIFE APOLINÁRIO DOS ANJOS

Avaliação da atividade de oviposição e fisiologia reprodutiva de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762) (Diptera, Culicidae) em solução de *Carica papaya* (LINNAEUS, 1753) (Caricaceae)

Monografia apresentada ao Departamento de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Magda Clara Vieira da Costa-Ribeiro.

Co-Orientador: Msc. Rodrigo Fajta Chitolina.

CURITIBA

2015

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida e todas graças concedidas. Agradeço à minha família, principalmente minha mãe, Lenira Apolinário Quirino dos Anjos, por sempre acreditar na educação como única e verdadeira forma de crescimento, ao meu pai, Jose Carlos Quirino dos Anjos, por me ensinar como as coisas são concebidas através do trabalho, ao meu irmão, Lucas Apolinário dos Anjos por trazer mais alegria e responsabilidade para minha vida desde o dia de seu nascimento. E a todos meus familiares que possuem um lugar especial em meu coração.

Aos meus amigos do colegial, que mesmo seguindo caminhos diferentes, não deixaram a amizade se perder. Aos grandes amigos da faculdade que fizeram desses últimos anos, os melhores da minha vida, aqui, cabe um agradecimento especial à Thais Santana de Lima que me acompanhou como uma irmã até mesmo, na construção da vida profissional. Agradeço a Fernanda Vitoria Buck Fonseca, minha namorada, pessoa com a qual resolvi compartilhar os momentos mais singelos, através do amor.

Agradeço aos meus professores, desde a escola, até a faculdade, que contribuíram, cada um à sua maneira, com minha formação acadêmica, sem vocês, isso não seria possível. Agradeço ao Laboratório de Parasitologia Molecular, por todo o tempo que passei lá, estudando, trabalhando e aprendendo, em especial ao meu Co-Orientador, Rodrigo Faitta Chitolina, que se dedicou de forma árdua para contribuir na minha formação acadêmica, passando todo aprendizado que possui. Agradeço muito, a minha Orientadora, Professora Doutora Magda Clara Vieira da Costa Ribeiro, que durante mais de dois anos e meio, exerceu seu papel de forma plena, como um verdadeiro professor deve fazer, cuidando e ensinando, sempre a disposição.

Agradeço também, a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram de maneira tênue para meu crescimento, mas que devido a falta de espaço, me impede de ser mais atencioso.

Muito Obrigado.

## RESUMO

O *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) (LINNAEUS, 1762) possui grande importância epidemiológica devido à transmissão dos arbovírus: dengue, chikungunya e zika. Em função da ausência de vacina ou fármacos para estes arbovírus, a principal forma de controle ainda se baseia no combate ao vetor. A atratividade da oviposição das fêmeas desta espécie para determinadas soluções tem sido alvo de vários estudos. Desse modo, foi proposto nesta investigação, avaliar a taxa de oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* e os aspectos da sua fisiologia reprodutiva em solução de *Carica papaya* (Caricaceae) (LINNAEUS, 1753), em função das suas folhas e sementes possuírem atividade larvicida para o *Ae. aegypti*, mas inexistirem informações sobre sua atratividade para oviposição das fêmeas desta espécie. Nos experimentos foram utilizadas fêmeas de *Ae. aegypti*, linhagem *Rockfeller* (15 fêmeas/gaiola) submetidas ao repasto sanguíneo em camundongos (*Swiss*) com mesma idade fisiológica, de acordo com duas metodologias: (i) metodologia com escolha, na qual na mesma gaiola foram disponibilizados três soluções para oviposição: tratamento (solução de *C. papaya* 10%, oriundas da folha), controle positivo (água destilada) e controle negativo (hipoclorito de sódio 1%); e, (ii) metodologia sem escolha, na qual, apenas uma solução estava disponível para oviposição em cada gaiola. As soluções foram trocadas e rotacionadas em sentido horário a cada 24 horas. Depois de 72 horas, os ovos foram contados e as fêmeas foram dissecadas para verificação da retenção de ovos nos ovários e confirmação fisiológica do repasto sanguíneo pela técnica de Detinova (1962). A técnica de Detinova evidenciou que 100% das fêmeas passaram pelo repasto sanguíneo, estando aptas a maturar seus ovos. Com relação à oviposição, foi verificado vinte vezes menos ovos na solução de *C. papaya* 10% em relação ao controle positivo, na metodologia com escolha. Na avaliação de retenção de ovos nos ovários, foi encontrada diferença significativa entre a solução de *C. papaya* 10% e o controle positivo, e entre o controle negativo e o controle positivo. Não foi encontrada diferença significativa entre *C. papaya* 10% e o controle negativo. Não foi observada oviposição no controle negativo. O Índice de Atratividade para Oviposição (OAI) demonstrou que a solução de *C. papaya* 10% é repelente para oviposição, OAI = -0,89851, na metodologia com escolha e, OAI = -0,60917 na metodologia sem escolha. Os resultados obtidos demonstraram que não é possível utilizar a solução de *C. papaya* 10% em armadilhas de oviposição dada sua propriedade repelente. Entretanto, este estudo representa um primeiro passo para posteriores pesquisas relacionadas à esta planta, uma vez que é demonstrado que na literatura diferentes concentrações podem ter efeito diferenciado sobre a fisiologia desta espécie.

Palavras-Chave: *Aedes aegypti*. Oviposição. *Carica papaya*. Atratividade.

## ABSTRACT

The *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) (Linnaeus, 1762) has a epidemiological high importance due to the transmission of the arboviruses: dengue, chikungunya and zika. The absence of vaccine or medicines for these arboviruses, make the entomologic surveillance the main way to control the diseases. The attractiveness of egg laying females for organic infusions has been the subject of several studies. Thus, it was proposed in this research to evaluate the oviposition rate of *Ae. aegypti* and aspects of their reproductive physiology on *Carica papaya* solution (Caricaceae) (Linnaeus, 1753) due to the larvicidal properties on their leaves and seeds to *Ae. aegypti*. Additionally, there is no information about the attractiveness for oviposition of females of this species. In the current experiments were used females of *Ae. aegypti*, Rockefeller strain (15 females/cage) submitted to the blood meal in mice (Swiss strain) with the same physiological age, according to two methods: (i) methodology to select, where in the same cage were provided three oviposition substrates: 10% *C. papaya* solution, positive control (distilled water) and negative control (sodium hypochlorite 1%); and no choice method where only one substrate was available in each cage for oviposition. The solutions were exchanged and rotated clockwise every 24 hours. After 72 hours, the eggs were counted and females were dissected to verify the retaining eggs in the ovaries and confirmation of the blood meal by Detinova technique (1962). The Detinova technique showed that 100% of females made the blood meal and its able to mature the eggs. In the methodology with choice, was verified statistical difference between *C. papaya* 10% and the positive control. Considering the eggs in the ovaries retention, significant differences were found between *C. papaya* solution 10% and the positive control, and between the negative control and the positive control, but there was no significant difference between *C. papaya* 10% and the negative control. It was observed in the negative control oviposition The Attractiveness Index for Oviposition (OAI) found that *C. papaya* 10% solution is repellent for oviposition,  $OAI = -0,89851$ , the methodology with choice and  $OAI = -0,60917$  methodology no choice. The results showed that *C. papaya* solution 10% is not appropriated in oviposition traps due to its repellent property. However, this study is a first step for further studies related to this vegetal, once it is demonstrated in the literature that different concentrations may have distinct effects on the physiology of the species.

Keywords: *Aedes aegypti*. Oviposition. *Carica papaya*. Attractiveness.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Esquema da disposição dos substratos de oviposição, com seus respectivos tratamentos nas metodologias com escolha (A) e, sem escolha (B). Fonte: O autor. ....	18
FIGURA 2: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> no controle fisiológico e nas gaiolas com diferentes tratamentos. Metodologia com escolha. Teste de U Mann-Whitney $p = 0,0238$ . Fonte: O autor. ....	21
FIGURA 3: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> no controle positivo e solução de <i>C. papaya</i> 10%. Metodologia com escolha. Teste U de Mann-Whitney, $p = 0,0022$ . Diferença significativa entre os grupos evidenciadas por **. Fonte: O autor. ....	22
FIGURA 4: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> no controle positivo e solução de <i>C. papaya</i> 10%. Metodologia sem escolha. Teste U de Mann-Whitney, $p = 0,1$ . Fonte: O autor. ....	23
FIGURA 5: Número de ovos retidos nos ovários entre as fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> nas soluções de <i>Carica papaya</i> 10% e do controle fisiológico. Metodologia com escolha. Teste U de Mann-Whitney, $p = 0,1667$ . Fonte: O autor.....	24
FIGURA 6: Número de ovos retidos nos ovários das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> entre controle positivo, solução de <i>C. papaya</i> 10% e controle negativo. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA, $p = 0,0001$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por ***. Fonte: O autor. ....	25
FIGURA 7: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> no controle positivo ao longo dos dias de experimento. Metodologia com escolha. Teste One Way ANOVA, $p = 0,0328$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por *. Fonte: O autor.....	26
FIGURA 8: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> na solução de <i>C. papaya</i> 10% ao longo dos dias de experimento. Metodologia com escolha. Teste One Way ANOVA, $p = 0,0014$ . Fonte: O autor. ....	26
FIGURA 9: Oviposição de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> no controle positivo ao longo dos dias de experimento. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA, $p = 0,002$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por * e **. Fonte: O autor. ....	27

FIGURA 10: Oviposição na solução de *C. papaya* 10% ao longo dos dias de experimento. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,1019$ . Fonte: O autor. .... 27

FIGURA 11: Escala do Índice de Atratividade para Oviposição (OAI). Metodologia Com Escolha OAI = 0,89851, Metodologia Sem Escolha OAI = 0,60917. Fonte: O autor. .... 28

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>14</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
3.1. Objetivo geral .....	15
3.2. Objetivos específicos .....	15
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
4.1. Criação e manutenção da colônia .....	16
4.2. Preparação dos tratamentos .....	16
4.3. Bioensaios .....	17
4.4. Dissecção dos ovários e verificação da retenção de ovos .....	18
4.5. Análise estatística .....	19
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>21</b>
5.1. Bioensaios de oviposição .....	21
5.2. Retenção de ovos nos ovários .....	23
5.3. Comportamento de oviposição ao longo dos dias de experimentos .....	25
5.4. Cálculo do Índice de Atratividade para Oviposição .....	28
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	<b>33</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762) é um inseto pertencente à ordem Diptera, família Culicidae. Sua morfologia externa é representada pela coloração marrom-escura, e é caracterizado pela presença de marcação prateada, na forma de “lira”, em seu tórax, além de várias manchas prateadas por todo seu corpo. Possui asa com cerca de três milímetros e probóscide com comprimento igual ao do fêmur (MATTINGLY *et al.*, 1962). É um inseto holometábolo, seu ciclo de vida consiste em quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto, sendo os três primeiros, aquáticos. Somente a fêmea realiza a hematofagia, necessária para maturação dos ovos (FORATTINI, 1996). O *Ae. aegypti* tem um comportamento particular de oviposição, ele é executado em saltos, conhecido como *skip oviposition*. Tal comportamento é representado pela ação de depositar os seus ovos no maior número de criadouros, proporcionando uma maior dispersão de seus descendentes (MOGI & MOKRY, 1980).

A princípio, reservatórios contendo água limpa eram considerados criadouros ideais para reprodução do mosquito, contudo há relatos da possível adaptação do vetor às condições ambientais adversas (VAREJÃO *et al.*, 2005). Entretanto, é desconhecido o que atrai especificamente a fêmea desta espécie para a oviposição, o que se sabe, é que bactérias associadas a ácidos carboxílicos afetam positivamente essa atratividade (PONNUSAMY *et al.*, 2008). Isso demonstra que a presença de compostos orgânicos na água afeta a sua atividade de oviposição, além disso, fatores como a baixa salinidade e a presença de coliformes fecais na água podem ser considerados como fatores atrativos para a oviposição de fêmeas desta espécie (NAVARRO *et al.*, 2003). Uma das justificativas para a atratividade observada pelos compostos orgânicos é a presença de bactérias associadas a estes compostos, como evidenciado no estudo de folhas de bambu do gênero *Bambusa*, demonstrando maior atratividade na presença de bactérias na solução (ARBAOUI & CHUA, 2014). Criadouros com menores quantidades de larvas, localizados no intra-domicílio e utilizados nas estações com temperaturas mais altas também colaboram para o desenvolvimento do *Ae. aegypti* (LOPES *et al.*, 2014).

O *Ae. aegypti* possui grande importância epidemiológica, por ser o responsável pela transmissão de inúmeros vírus causadores de doenças aos seres

humanos, são eles: o vírus da Dengue, da Febre Amarela Urbana, Febre Chikungunya além do Vírus Zika.

*Ae. aegypti* é o principal vetor do vírus da dengue no Brasil e, em várias localidades do mundo. Em 2015, o número de casos de dengue confirmados no Brasil até o mês de agosto ultrapassou 18.000, com 1243 deles sendo considerados como graves, levando a 693 óbitos. Estes dados podem ser considerados alarmantes, uma vez que demonstra um amplo aumento em relação ao mesmo período do ano passado, com menos da metade dos casos, aproximadamente nove mil casos confirmados, dos quais 664 considerados graves levando a 407 mortes (MINISTÉRIO DA SAÚDE: SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2015).

O homem não é o único hospedeiro do vírus, mas outros primatas podem executar essa função, entretanto, a manifestação clínica ocorre somente no ser humano. Trata-se de doença estritamente urbana, visto que o ciclo silvestre perdeu importância epidemiológica ao longo dos anos (BORGES, 2001).

O vírus da dengue pertence à família Flaviviridae, gênero *Flavivirus* e é representado por quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (WHO, 2009), além do DENV-5, descoberto na Malásia (NORMILE, 2013).

O *Ae. aegypti* é também responsável pela transmissão de outros dois importantes arbovírus, recentemente introduzidos no Brasil: Chikungunya, que causa a febre Chikungunya (SCHILTE *et al.*, 2013) e, do vírus Zika, sendo que o primeiro e pertencem à família Togaviridae (gênero *Alphavirus*) e, o segundo à família Flaviviridae (gênero *Flavivirus*) (DICK *et al.*, 1952), respectivamente.

A competência de transmissão viral do *Ae.aegypti* está relacionada à temperatura global e sua capacidade de sobrevivência durante o ano, assim como o *Aedes (Stegomyia) albopictus* (SKUSE, 1894) (Diptera, Culicidae), também transmissor de arbovírus, mas sem relato ainda para o Brasil (BRADY *et al.*, 2014).

É grande a preocupação existente em torno destas arboviroses, dada sua ampla distribuição e devido à enorme quantidade de pessoas que são acometidas. Desta forma, tornam-se necessários mais estudos sobre os aspectos fisiológicos e reprodutivos desta espécie, uma vez que isso influencia diretamente na distribuição dos vetores e, conseqüentemente, na epidemiologia das arboviroses. No que consiste ao tratamento, não existem vacinas ou fármacos para combater essas

arboviroses, sendo assim, a principal forma de combate, é o controle do vetor (WHO, 2009).

Dentre os métodos de controle vetorial por meio do controle químico é executado através da utilização dos inseticidas, apesar de algumas regiões relatarem resistência das populações expostas, o que o torna menos efetivo (MACORIS *et al.*, 2014); há também o controle biológico, sendo o *Bacillus (thuringiensis) israelenses* o principal deles (BESERRA *et al.*, 2010). Outra forma de controle vetorial disponível consiste na eliminação de possíveis criadouros do inseto, através do manejo ambiental, ou seja, remoção de resíduos e objetos que sirvam como possíveis criadouros para a deposição dos ovos de *Ae. aegypti* (MINISTÉRIO DA SAÚDE: FUNASA, 2001).

Algumas armadilhas que simulam criadouros foram moldadas a partir de parafina e cera de abelha, com adição de compostos larvicidas como o Piriproxyfen, procurando associar a simulação ideal de campo e atividade larvicida para evitar a emergência de adultos de *Ae. aegypti* (JUAN *et al.*, 2013). Existem inclusive sistemas computadorizados que associam os dados de captura do *Ae. aegypti* a dados georreferenciados em tempo real, como o *Intelligent Dengue Monitoring* (MI-Dengue) (EIRAS & RESENDE, 2009). A utilização de ovitrampas contendo superfícies adesivas para captura de fêmeas grávidas, *Autocidal gravid Ovitrap*, tem sido muito efetiva, evidenciado pela redução significativa das populações de *Ae. aegypti* em áreas no sul de Porto Rico (BARRERA *et al.*, 2014).

Estimar a densidade de *Ae. aegypti*, para que medidas de controle sejam tomadas, é um dos passos mais importantes neste processo de controle vetorial. Existem várias metodologias preconizadas pelo Ministério da Saúde para avaliar a presença de *Ae. aegypti* no ambiente, dentre as quais, o uso de armadilhas do tipo ovitrampa é amplamente utilizado. As ovitrampas consistem em reservatórios geralmente pretos, com uma substância atrativa, além de um substrato para oviposição feito de madeira ou papel em relevo (FAY & PERRY, 1965). Ao longo dos anos elas foram otimizadas, a adição de superfícies adesivas permitiu a captura de fêmeas grávidas, surgindo novas armadilhas, denominadas *Autocidal Gravid Ovitrap* (AGO), além disso, o aumento da superfície de entrada e do volume da infusão a ser utilizada, junto da mudança na coloração de todos os itens da

armadilha para preto, cor atrativa para a espécie, permitiu o aumento de sua efetividade (MACKAY *et al.*, 2013).

O uso de armadilhas para capturar insetos é uma estratégia mais custo-efetiva para monitorar a infestação de *Ae. aegypti* do que a amostragem por larvas, método utilizado atualmente no Levantamento de Índice Rápido de Infestação por *Ae. aegypti* (LIRA).

A armadilha do tipo ovitrampa captura principalmente ovos do gênero *Aedes*, contudo, a sua utilização implica em vistoria a cada cinco dias, dependendo da região, três dias, para que as formas imaturas não evoluam para adulto e, esta se transforme em um criadouro em potencial. Desse modo, a utilização de substâncias de ação larvicida na ovitrampa e que sirvam para atração das fêmeas, minimizaria o trabalho dos agentes no campo.

Vários estudos são direcionados para a atividade de oviposição, fisiologia e mortalidade de fêmeas *Ae. aegypti*, principalmente aqueles elaborados a partir de vegetais. Com relação à atividade de oviposição, há trabalhos que testaram diferentes vegetais, como folhas de caju, casca de batata e gramíneas (SANTOS & ALBUQUERQUE, 2006) bem como a atratividade do extrato das sementes da moringa, da espécie *Moringa oleifera* (SANTOS *et al.*, 2014).

Dessas infusões, as mais comuns são aquelas feitas com gramíneas, usualmente chamadas de feno (SANTOS & ALBUQUERQUE, 2006). Entretanto, é controversa a atratividade desta solução devido à variedade de vegetais utilizados para produção das soluções de feno (REITER *et al.*, 1991, CHADEE *et al.*, 1993). Os possíveis compostos que justificam atratividade para oviposição de *Ae. aegypti* em gramíneas são o fenol e o 4-etilfenol (ALLAN & KLINE, 1995). Existem estudos relacionados ao efeito de vegetais, não somente sobre a atratividade, mas também sobre a mortalidade de *Ae. aegypti*, por exemplo o óleo essencial da inflorescência da *Etilingera elatior*, conhecida como Bastão do Imperador, que apresentou atividade larvicida para *Ae. aegypti*, além de atividade repelente à oviposição (SILVA, 2012). Outros compostos que possuem atividade larvicida evidenciada para o *Ae. aegypti* são, *Croton rhamnifolioides* (SANTOS *et al.*, 2014) e *Piper aduncum* (OLIVEIRA *et al.*, 2013), entretanto, para estes compostos não há estudos relacionados à sua atratividade para oviposição.

*Carica papaya* (LINNAEUS, 1753) é uma planta pertencente à família Caricaceae que possui trinta e quatro espécies, subdivididas em seis gêneros, *Carica*, *Cylicomorpha*, *Horovitzia*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Vasconcellea*, sendo que a espécie *C. papaya* a mais cultivada do gênero *Carica*. Originária do sul do México, atualmente *C. papaya* está distribuída ao longo de toda área tropical do globo (KOVENDAN *et al.*, 2012). É amplamente utilizada como planta medicinal, visto que possui atividade antifúngica, bactericida e antihelmíntica (KRISHNA *et al.*, 2008). Além disso, estudos evidenciam a atividade larvicida desta espécie contra imaturos de diversos insetos. Foi verificado que o extrato de suas folhas pode causar mortalidade de larvas e pupas de *Ae. aegypti* (KOVENDAN *et al.*, 2012). O extrato de suas sementes possui atividade larvicida frente a imaturos da espécie *Culex quinquefasciatus* (RAWANI *et al.*, 2009). O extrato de clorofórmio da semente de *C. papaya* apresenta redução na viabilidade e no peso, além de retardar o desenvolvimento de larvas e pupas de Lepidópteros da espécie *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) (PÉREZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2011).

Existem estudos que evidenciam a ação larvicida e ovicida do extrato aquoso e etanólico de *C. papaya* até mesmo em espécies de Nematoda, como o *Heligmosomoides bakeri* (WABO PONÉ *et al.*, 2011). O extrato etanólico das sementes de *C. papaya* causou mortalidade de caramujos da espécie *Lymnaea acuminata* (JAISWAL & SINGH, 2008). A associação do extrato fermentado de *C. papaya* a óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Melaleuca alternifolia* e *Carapa guianensis* também tem demonstrado atividade larvicida para o *Ae. aegypti* (TORRES *et al.*, 2014).

## 2. JUSTIFICATIVA

São vários os métodos de estimativas populacionais para *Ae. aegypti*, muitos destes com problemas relacionados à logística, uma vez que as armadilhas usadas podem favorecer a eclosão do ovo e desenvolvimento das demais formas evolutivas até o adulto. As metodologias atuais preconizam que o monitoramento das armadilhas seja realizado em períodos menores, o que requer mais investimento em agentes pelas secretarias de saúde.

É imprescindível que se realizem mais pesquisas nessa área, para que seja proposta uma metodologia que contribua para a oviposição das fêmeas desta espécie e ao mesmo tempo tenha efeito larvicida, caso os ovos eclodam antes da inspeção dos agentes de saúde.

Muitos compostos têm atividade larvicida comprovada para o *Ae. aegypti*, entretanto, apresentam dificuldade na sua obtenção, o que deve ser levado em conta para sua utilização. O *C. papaya* é um dos vegetais que possui atividade larvicida conhecida, pois é muito comum em países tropicais, e de fácil obtenção.

Adequar as metodologias de coleta à rotina das secretarias de saúde é de suma importância, pois minimiza o tempo de execução e otimiza os resultados, possibilitando respostas mais efetivas.

Investigações sobre a atratividade de oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* para um determinado tratamento que tenha propriedade larvicida e atrativa concomitante, subsidia novas possibilidades de controle e estimativas populacionais.

Considerando que a espécie *C. papaya* tem demonstrado propriedade larvicida para as formas imaturas de *Ae. aegypti* (KOVENDAN *et al.*, 2012) objetivou-se nesse estudo, avaliar se há propriedade atrativa desta planta para oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral:**

Avaliar a taxa de oviposição de fêmeas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* e aspectos da fisiologia reprodutiva na solução de *Carica papaya*.

#### **3.2 Objetivos específicos:**

Comparar a taxa de oviposição entre as soluções de *C. papaya* na concentração de 10% e água destilada (controle positivo);

Dissecar os ovários das fêmeas de *Ae. aegypti* expostas à infusão de *C. papaya* na concentração de 10%, água destilada (controle positivo) e hipoclorito de sódio (controle negativo) para verificar se houve retenção de ovos nos ovários;

Verificar o comportamento de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* frente ao *C. papaya* ao longo dos dias de experimentação;

Avaliar o Índice de Atratividade para Oviposição (OAI) de *C. papaya* na concentração de 10%.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Criação e manutenção da colônia:**

Ovos de *Ae. aegypti*, da linhagem Rockefeller, cedidos pelo IBEX (Instituto de Biologia do Exército), foram colocados em água desclorada para eclosão. Como fonte de alimento para as larvas, utilizou-se ração de peixe triturada e uma vez que atingiram o estágio de pupa, estas foram individualizadas e colocadas em gaiola (30x30x30 cm) para obtenção dos mosquitos adultos. Quando adultos, os mesmos foram mantidos com solução açucarada a 10%.

Para manutenção da colônia e obtenção de ovos para os experimentos, as fêmeas adultas realizaram repasto sanguíneo em camundongos da espécie *Mus musculus*, linhagem Swiss (de acordo com o comitê de ética para utilização de animais da Universidade federal do Paraná, protocolo 714). Como substrato de oviposição, disponibilizou-se em cada gaiola um vasilhame preto (10 cm de diâmetro), atrativo para oviposição (DIBO, 2003), incluindo outro copo dentro, com água desclorada e papel filtro para a oviposição.

Todo o processo de criação e manutenção foi realizado sob condições controladas de temperatura ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade (60-70%) e fotoperíodo (12:12) em incubadora BOD.

### **4.2. Preparação dos tratamentos:**

A solução de *C. papaya* foi preparada a partir de folhas. As folhas foram lavadas em água destilada e secadas em papel toalha em temperatura ambiente. Posteriormente, 80 gramas de folhas foram maceradas em 240 mL de água destilada num liquidificador (KOVENDAN *et al.* 2012). Essa solução serviu como extrato para diluição em 10%. Desse modo, nos bioensaios foi utilizada essa concentração para verificação se ocorreria ou não propriedade de atração para oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*. Como controle positivo utilizou-se água destilada e como controle negativo o hipoclorito de sódio 1%, diluído a partir de uma solução inicial de 10%.

### 4.3. Bioensaios

Para a realização dos bioensaios de oviposição foram utilizadas 15 fêmeas de *Ae. aegypti* ingurgitadas com a mesma idade fisiológica, gaiolas (30x30x30cm), recipientes pretos (10 cm de diâmetro) e papel filtro na parte interna dos recipientes para a oviposição. O controle fisiológico que consiste de fêmeas expostas exclusivamente à água destilada com substrato para oviposição, foi utilizado para assegurar que o lote de fêmeas utilizado estava apto a oviposição, além de ser utilizado de forma comparativa para a análise de retenção de ovos.

Os bioensaios foram realizados em triplicatas segundo duas metodologias: a primeira, denominada com escolha, que consiste na disponibilização de três soluções para oviposição na mesma gaiola: solução de *C. papaya*, hipoclorito de sódio 1% (controle negativo) e, água destilada (controle positivo). Além disso, três gaiolas usadas como controle fisiológico, com três recipientes preenchidos apenas com água desclorada (FIGURA 1).

A segunda metodologia, denominada sem escolha, foi disponibilizado por gaiola apenas uma solução *C. papaya* (10%), água destilada e hipoclorito de sódio a 1%. Nesse caso, as gaiolas contendo apenas água destilada figuraram como o controle fisiológico, concomitantemente (FIGURA 1).

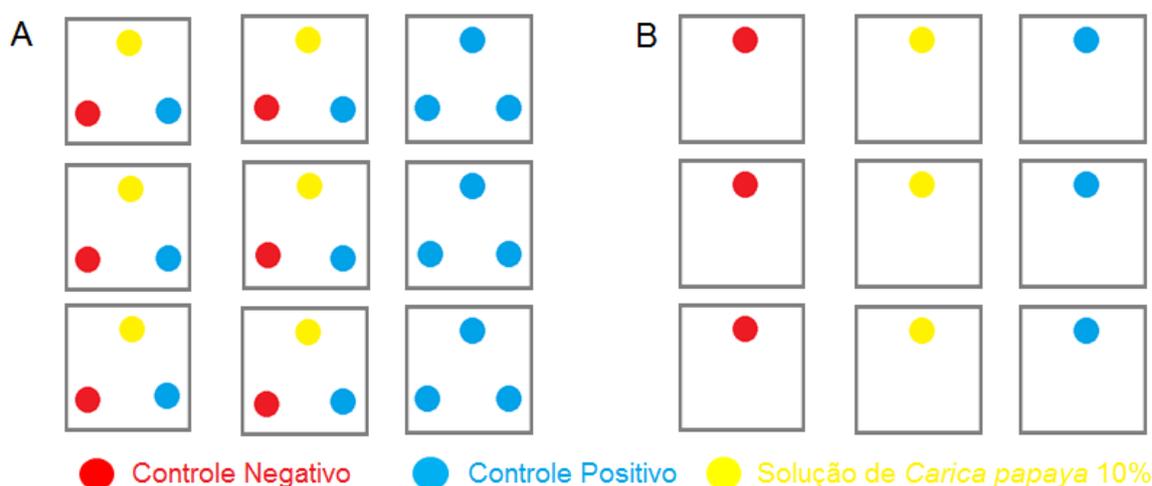


FIGURA 1: Esquema da disposição dos substratos de oviposição, com seus respectivos tratamentos nas metodologias com escolha (A) e, sem escolha (B). Fonte: O autor.

Os recipientes para oviposição, com as respectivas soluções, foram disponibilizados para as fêmeas de *Ae. aegypti* cinco dias após a realização do

repasto sanguíneo, tempo necessário para o desenvolvimento dos ovos e da predisposição da fêmea à oviposição.

Os vasilhames ficaram dispostos em formato de triângulo, de forma equidistante, dentro das gaiolas (FIGURA 1). A cada 24 horas se efetuou a renovação das soluções e rotação delas no sentido horário. Os bioensaios tiveram duração de 72 horas, período após o qual procedeu-se a contagem dos ovos depositados, com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Todos os experimentos foram realizados em condições controladas de temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade (60-70%) e fotoperíodo 12h:12h.

#### **4.4. Dissecção dos ovários e verificação da retenção de ovos:**

Após o período de 72 horas, o abdômen de cada fêmea foi dissecado sob microscópio estereoscópico, com auxílio de microestiletos entomológicos. Para a confirmação do repasto sanguíneo utilizou-se a técnica de DETINOVA (1962), que consiste na observação do enovelamento das traquéolas, estruturas presentes no ovário, responsáveis pela sua nutrição. Traquéolas enoveladas demonstram que o repasto sanguíneo não foi realizado, ao contrário, se elas estiverem distendidas, pode-se afirmar que o repasto sanguíneo foi executado. Todas as fêmeas advindas dos experimentos tiveram suas traquéolas avaliadas, e o abdome dissecado para a remoção dos ovários e posterior contagem de ovos retidos.

#### **4.5. Análise estatística**

Para a análise estatística dos dados obtidos nos bioensaios de oviposição e avaliação da retenção de ovos nos ovários das fêmeas, considerando metodologia com escolha, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney, desenvolvido inicialmente por Frank Wilcoxon, em 1945, e posteriormente por Henry Mann e Donald Whitney em 1947, que consiste na comparação de dois grupos, para verificar se estão ou não pareados e quantificar a diferença entre eles. É considerado ideal para amostras pequenas com variações numéricas fora da normalidade (MANN & WHITNEY, 1947).

Para avaliação da retenção de ovos nos ovários das fêmeas na metodologia sem escolha e avaliação do comportamento de oviposição ao longo dos dias de experimento, foi utilizado o teste One Way ANOVA em associação com o teste de

múltipla comparação de Tukey. O teste One Way ANOVA permite a comparação entre três grupos e o teste de múltipla comparação de Tukey possibilita verificar em quais destes grupos existe diferença estatística (TUKEY, 1949).

Para ambos os testes estatísticos utilizados, valores de  $p$  significantes são aqueles menores ou iguais a 0,05, ou seja, com baixa probabilidade de serem obtidos ao acaso.

Todas as análises foram realizadas no programa *GraaphPad PRISM 5* versão 5.00 (Trial).

Para avaliar o comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* frente à solução de *C. papaya* 10% e classificar a possível existência de atratividade para oviposição desta solução, calculou-se o Índice de Atratividade para Oviposição (OAI), elaborado por Kramer & Mulla (1979), que é calculado segundo a fórmula:

$$\text{OAI} = \frac{N_t - N_s}{N_t + N_s}$$

Onde:

$N_t$  = Número de ovos no tratamento

$N_s$  = Número de ovos no controle

O OAI varia entre +1 e -1. Valores positivos indicam que foram depositados mais ovos no tratamento em relação ao controle positivo e, valores negativos, indicam o oposto. Além disso, segundo Kramer & Mulla (1979), tratamentos que apresentam atratividade para oviposição possuem valores de OAI maiores ou iguais a +0,30. Em contrapartida, tratamentos que apresentam atividade repelente à oviposição possuem valores de OAI menores ou iguais a -0,30.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Bioensaios de oviposição

Ao término dos bioensaios procedeu-se a contagem dos ovos ovipositados pelas fêmeas de *Ae. aegypti*. Foi constatado que o número inicial de 15 fêmeas por gaiola permaneceu ao longo de todo o experimento. Desta forma, na metodologia com escolha, considerando cada gaiola (controle positivo, controle negativo e solução de *C. papaya* 10%), foi obtida a média de 548,5 ovos. Nas triplicatas do controle fisiológico, a média foi de 983,6 ovos (FIGURA 2).

A realização do teste U de Mann-Whitney para os dados obtidos de cada gaiola (controle positivo, controle negativo, *C. papaya*) e do controle fisiológico gerou um  $p=0,0238$ , ou seja, valor considerado significativo (FIGURA 2).

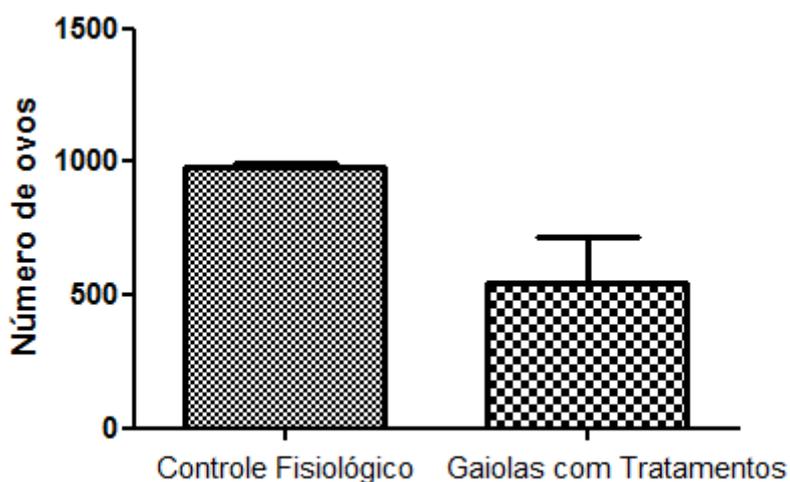


FIGURA 2: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* no controle fisiológico e nas gaiolas com diferentes tratamentos. Metodologia com escolha. Teste de U Mann-Whitney  $p = 0,0238$ . Fonte: O autor.

Na metodologia com escolha, analisando a oviposição obtida, o controle positivo (água destilada) apresentou em média, 520, 6 ovos e, a solução de *C. papaya* 10%, uma média de 27,8 ovos. Como esperado, nenhum recipiente do controle negativo apresentou oviposição pelas fêmeas desta espécie. A realização do teste U de Mann-Whitney entre os dados obtidos para o controle positivo e para a solução de *C. papaya* 10%, evidenciou um  $p$  valor significativo de 0,0022 (FIGURA 3).

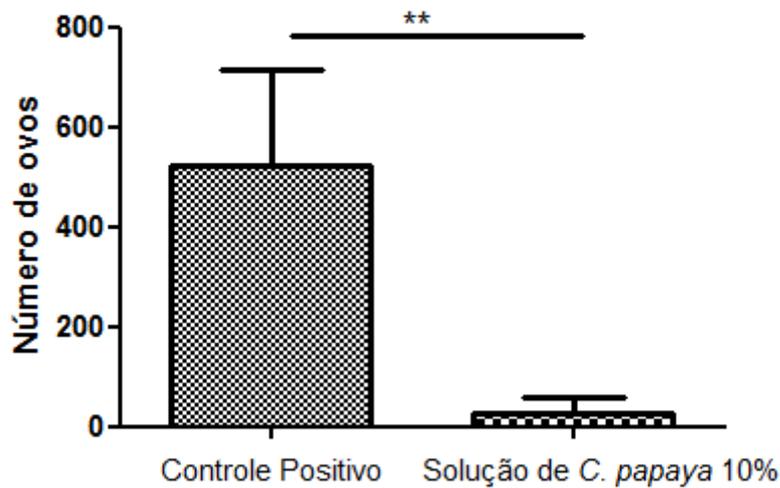


FIGURA 3: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* no controle positivo e solução de *C. papaya* 10%. Metodologia com escolha. Teste U de Mann-Whitney,  $p = 0,0022$ . Diferença significativa entre os grupos evidenciadas por \*\*. Fonte: O autor.

Na metodologia sem escolha, o maior número de ovos foi observado no controle positivo, média de 936 ovos em relação à solução de *C. papaya* 10%, que teve em média 227,3 ovos. Nenhum ovo foi observado nas triplicatas do controle negativo. Os dados obtidos foram analisados pelo teste U de Mann-Whitney, gerando um  $p$  valor igual a 0,1, considerado não significativo (FIGURA 4).

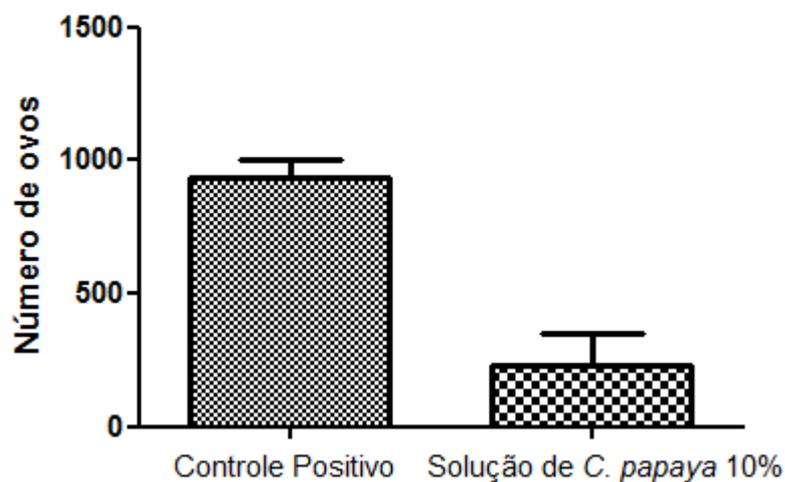


FIGURA 4: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* no controle positivo e solução de *C. papaya* 10%. Metodologia sem escolha. Teste U de Mann-Whitney,  $p = 0,1$ . Fonte: O autor.

## 5.2. Retenção de ovos nos ovários

Ao fim dos bioensaios todas as fêmeas de *Ae. aegypti* foram submetidas à dissecação dos ovários (metodologia com escolha e sem escolha) para observação e contagem dos ovos retidos neste órgão. Além disso, todas as fêmeas em ambas as metodologias, tiveram a confirmação do repasto sanguíneo pela técnica de DETINOVA (1962), evidenciando a capacidade de maturação de seus ovos.

Na metodologia com escolha foram observados em média, 637 ovos retidos nos ovários das fêmeas provenientes das gaiolas com o controle positivo, *C. papaya* 10% e hipoclorito de sódio 1%. Nas réplicas do controle fisiológico foi observada a média de 467 ovos retidos nos ovários.

A realização do teste U de Mann-Whitney, comparando os valores obtidos das gaiolas com as três soluções (água destilada, *C. papaya* e hipoclorito de sódio 1%) e as gaiolas do controle fisiológico, evidenciou um  $p$  valor de 0,1667, valor não significativo (FIGURA 5).

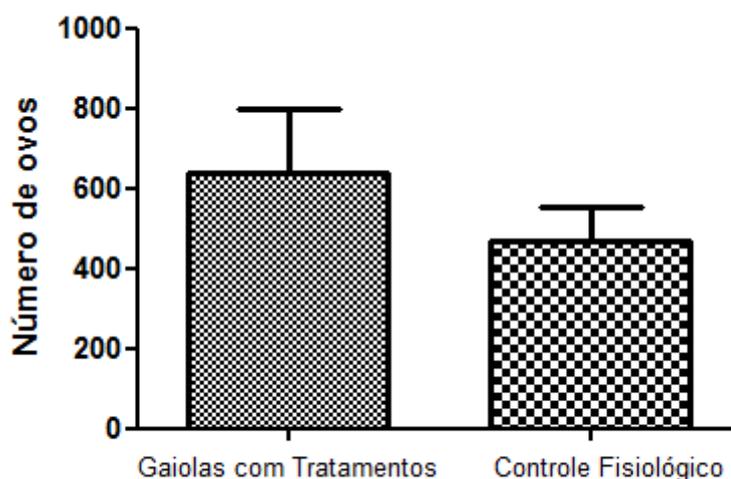


FIGURA 5: Número de ovos retidos nos ovários entre as fêmeas de *Ae. aegypti* nas soluções de *Carica papaya* 10% e no controle fisiológico. Metodologia com escolha. Teste U de Mann-Whitney,  $p = 0,1667$ . Fonte: O autor.

Na metodologia sem escolha, a média de retenção de ovos nos ovários das fêmeas de *Ae. aegypti* foi maior nas réplicas do controle negativo, 992,3 ovos. A retenção de ovos nas réplicas do controle positivo foi em média de 219,6 ovos, média esta, menor em relação à verificada nas réplicas contendo solução de *C. papaya* 10%, que foi de 942,3 ovos retidos nos ovários.

A realização do teste One Way ANOVA gerou um  $p$  valor de 0,0001 e o teste de múltipla comparação de Tukey demonstrou que há diferença significativa na retenção de ovos nos ovários no controle positivo em relação ao controle negativo e, no controle positivo em relação à solução de *C. papaya* 10% (FIGURA 6).

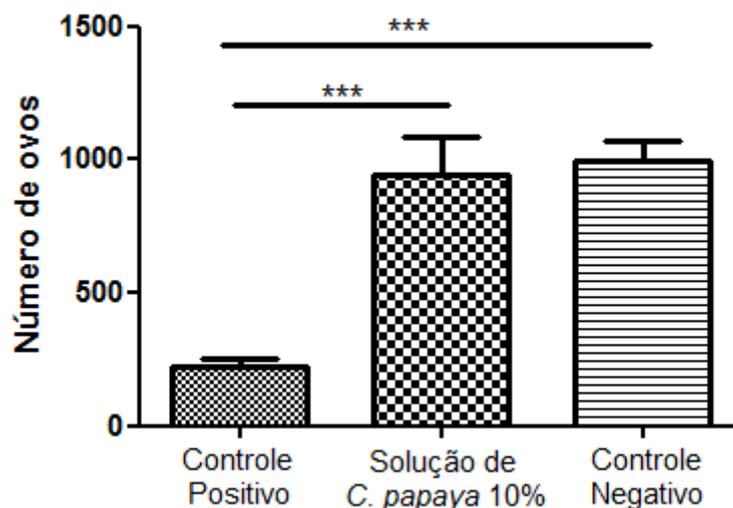


FIGURA 6: Número de ovos retidos nos ovários das fêmeas de *Ae. aegypti* entre controle positivo, solução de *C. papaya* 10% e controle negativo. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,0001$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por \*\*\*. Fonte: O autor.

### 5.3. Comportamento de oviposição ao longo dos dias

Para verificar se houve diferença comportamental no ciclo de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* ao longo dos três dias de experimento, foram comparados os valores de oviposição entre o controle positivo e a solução de *C. papaya* 10%.

Na metodologia com escolha, o teste One Way ANOVA para os dados obtidos no controle positivo, evidenciou um  $p$  valor de 0,0328, e o teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que há diferença significativa na oviposição entre os dias 1 e 3 (FIGURA 7).

Para a solução de *C. papaya* 10%, o teste One Way ANOVA gerou um  $p$  valor de 0,0014, demonstrando que os valores são significativos. Contudo, quando analisados dois a dois pelo teste de múltipla comparação de Tukey, não há evidência dessa diferença significativa entre os dias (FIGURA 8).

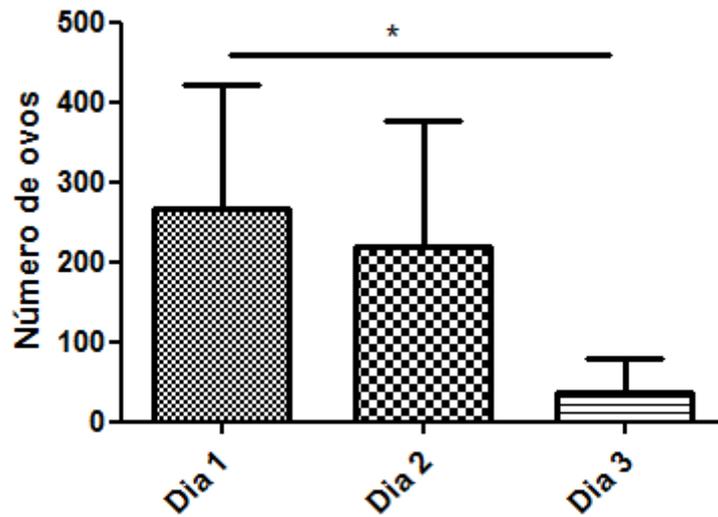


FIGURA 7: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* no controle positivo ao longo dos dias de experimento. Metodologia com escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,0328$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por \*. Fonte: O autor.

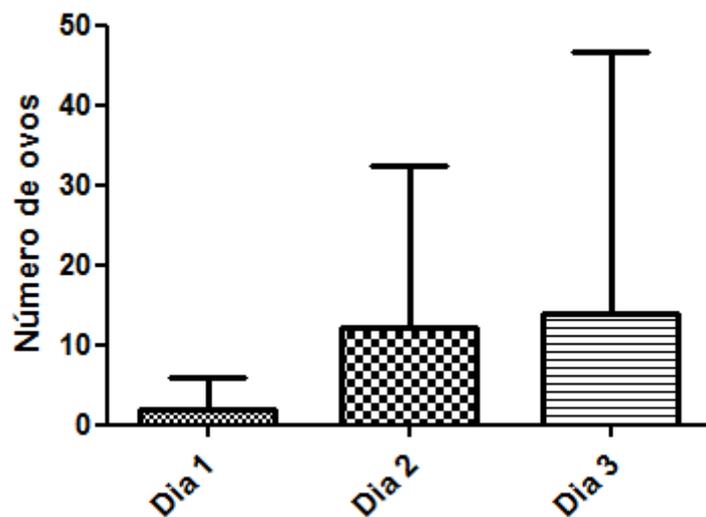


FIGURA 8: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* na solução de *C. papaya* 10% ao longo dos dias de experimento. Metodologia com escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,0014$ . Fonte: O autor.

Na metodologia sem escolha, para o controle positivo, o teste One Way ANOVA gerou um  $p$  valor de 0,002. O teste de múltipla comparação de Tukey evidenciou que há diferença significativa na oviposição entre os dias 1 e 2 e, os dias 1 e 3 (FIGURA 9).

Para a solução de *C. papaya* 10%, o teste One Way ANOVA gerou um  $p$  valor de 0,1019, valor não significativo. O teste de múltipla comparação de Tukey

não confirma a diferença significativa na oviposição entre os dias para este tratamento (FIGURA 10).

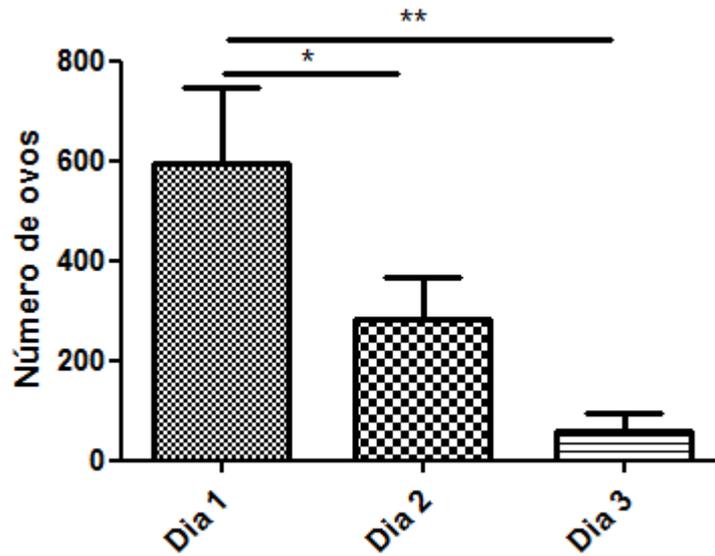


FIGURA 9: Oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* no controle positivo ao longo dos dias de experimento. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,002$ . Diferenças significativas entre os grupos representadas por \* e \*\*. Fonte: O autor.

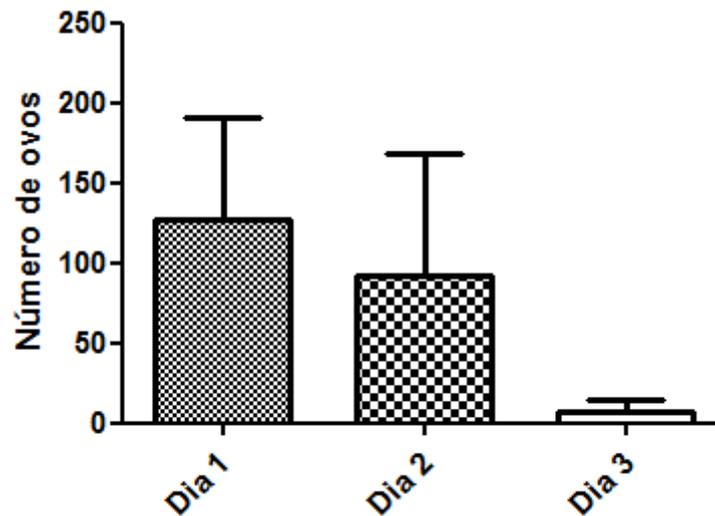


FIGURA 10: Oviposição na solução de *C. papaya* 10% ao longo dos dias de experimento. Metodologia sem escolha. Teste One Way ANOVA,  $p = 0,1019$ . Fonte: O autor.

#### 5.4. Cálculo do Índice de Atratividade para Oviposição (OAI)

Para avaliar como a solução de *C. papaya* 10% modula a atividade de oviposição por meio de uma escala numérica, foi calculado o Índice de Atratividade para Oviposição (OAI), através do número total de ovos na solução de *C. papaya* 10% em relação ao número de ovos no controle positivo.

Nos recipientes referentes à metodologia com escolha foram ovipositados um total de 3124 ovos, nos substratos de oviposição do controle positivo, já nos substratos de oviposição contendo solução de *C. papaya* 10% foram contabilizados 167 ovos. Estes valores geraram um OAI igual a -0,89851, indicando a solução de *C. papaya* como repelente à oviposição, por ser menor que -0,3.

Na metodologia sem escolha a maior oviposição também ocorreu nas triplicatas do controle positivo, perfazendo um total de 2808 ovos, ao longo dos três dias de realização do bioensaio.

Nas triplicatas com a presença da solução de *C. papaya* 10%, foram ovipositados 682 ovos. Estes valores resultaram num OAI igual a -0,60917, caracterizando assim, atividade repelente à oviposição da solução de *C. papaya* 10% (FIGURA 11).

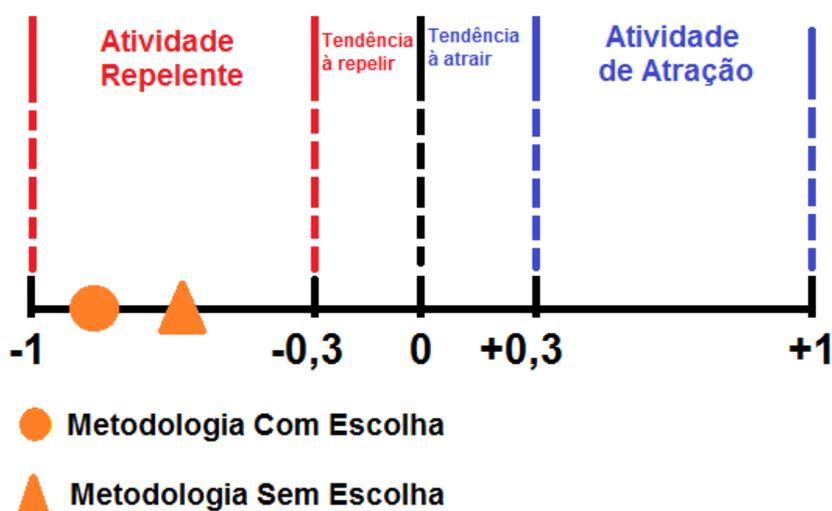


FIGURA 11: Escala do Índice de Atratividade para Oviposição (OAI). Metodologia Com Escolha OAI = 0,89851, Metodologia Sem Escolha OAI = 0,60917. Fonte: O autor.

## 6. DISCUSSÃO

O comportamento de oviposição de fêmeas desta espécie é de especial interesse, uma vez que está intimamente ligada ao seu estabelecimento em determinada área, assim como a sua dispersão e do arbovírus, conseqüentemente, caso o mosquito esteja infectado.

Desse modo, estudos sobre a modulação da atividade de oviposição do *Ae. aegypti* em soluções com comprovada atividade larvicida tem como intuito, viabilizar sua utilização em campo, otimizando as medidas de controle. Nesse contexto, os resultados obtidos nesta investigação permitem algumas inferências sobre o comportamento de oviposição desta espécie expostas à solução de *C. papaya* 10%.

Na comparação entre a solução de *C. papaya* 10% e o controle positivo, observa-se maior oviposição neste último, sendo a média de oviposição de aproximadamente vinte vezes maior que a média encontrada para a solução de *C. papaya* 10%.

A partir dos resultados provenientes da metodologia com escolha, a oviposição das fêmeas das gaiolas onde havia o controle positivo, a solução de *C. papaya* 10% e hipoclorito de sódio 1% comparativamente às das fêmeas das gaiolas do controle fisiológico, apresentou diferença significativa. Assim, é possível inferir que a variedade de tratamentos pode prejudicar a oviposição. Contudo, ainda não é possível afirmar se isso foi devido ao *C. papaya* 10%, controle negativo, ou a associação dos dois tratamentos.

Na metodologia sem escolha, a diferença foi de quatro vezes mais ovos para as fêmeas oriundas do controle positivo em relação à solução em estudo, apesar de não ter sido encontrada diferença significativa.

Os testes de retenção de ovos nos ovários das fêmeas de *Ae. aegypti* corroboram com os dados obtidos na oviposição. Na metodologia com escolha, a retenção de ovos nos ovários, foi semelhante entre as gaiolas contendo as três soluções o controle fisiológico. Como foram analisadas as fêmeas no seu conjunto, esse resultado foi semelhante, provavelmente, devido à presença da água destilada como o controle positivo nas gaiolas de experimentação, possibilitando às fêmeas uma opção à oviposição em detrimento a solução de *C. papaya* 10%.

Quando mantido o controle positivo separado das demais soluções, a média de retenção de ovos permanece baixa, mas a solução de *C. papaya* 10% apresenta

retenção de ovos significativamente maior, demonstrando não ser uma solução ideal para oviposição. Fato que se confirma quando comparamos a retenção de ovos nas réplicas contendo solução de *C. papaya* 10% e controle negativo. Ambos os tratamentos apresentam valores na retenção de ovos nos ovários muito semelhante, 992 ovos no controle negativo, 942 ovos na solução de *C. papaya* 10%. Isso evidencia a maior proximidade da solução de *C. papaya* 10% a um tratamento repelente do que um tratamento ideal para oviposição.

A oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* ao longo dos dias de experimento, evidenciou maior oviposição no primeiro dia de experimento para o controle positivo, resultado esperado, já que as fêmeas foram privadas de substrato para oviposição durante cinco dias antes da realização dos experimentos. Além disso, a maior oviposição no primeiro dia em relação à solução de *C. papaya* 10% demonstra o quanto a água destilada é um substrato favorável à oviposição.

Para a solução em estudo, o resultado foi o contrário, na metodologia com escolha, a maior preferência pelas fêmeas de *Ae. aegypti* submetidas à solução de *C. papaya* 10%, foi no terceiro dia, demonstrando que a fêmea num primeiro momento retém seus ovos procurando um criadouro ideal e, só depois, sem opção, oviposita no criadouro disponível. Ainda, considerando esta solução, na metodologia sem escolha a oviposição das fêmeas expostas à solução de *C. papaya* foi maior no primeiro dia, contudo, não houve diferença significativa, demonstrando oviposição semelhante neste criadouro quando isolado.

Assim, considerando ambas as metodologias utilizadas com escolha e sem escolha, a diferença em relação à oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* no controle positivo e na solução de *C. papaya* 10% é notória.

Cabe relatar que nenhum ovo foi encontrado no controle negativo utilizado, o hipoclorito de sódio 1%, mesmo com a disponibilidade de outras soluções próximas, (metodologia com escolha), ou somente com o controle negativo, (metodologia sem escolha). Isso demonstra que o hipoclorito de sódio 1% é uma solução repelente para oviposição do *Ae. aegypti*. Uma das justificativas para esta repelência dar-se-á pela mortalidade de larvas submetidas ao hipoclorito de sódio, de maneira rápida e eficiente (RITCHIE, 2001) Apesar disso, para utilização em políticas de controle de *Ae. aegypti*, este tratamento não é aconselhado, por ter atividade menor que outros larvicidas químicos, como o Temephós ou Metropene ou

até mesmo, larvicidas biológicos como o BTI (MINISTÉRIO DA SAÚDE: FUNASA, 2001).

Na análise sobre a atratividade da solução de *C. papaya* 10%, foi utilizado o Índice de Atratividade para Oviposição (OAI). Os valores foram calculados em relação ao número de ovos encontrados na água destilada e foram gerados para cada uma das metodologias. Em ambas, o resultado classificou a solução de *C. papaya* 10% como repelente à oviposição por serem valores menores que -0,3. Na metodologia com escolha, o OAI obtido foi de -0,89851 e na metodologia sem escolha, o OAI foi igual a -0,60917. Ainda é possível afirmar através do Índice de Atratividade para Oviposição obtido, que próximo da água, a solução de *C. papaya* 10% apresenta maior atividade repelente para oviposição. Isso pode ser devido à opção de água destilada existente, favorecendo a oviposição neste sítio, quando isolada, a solução de *C. papaya* 10% apresenta menor atividade repelente, pois é a única opção de oviposição para as fêmeas de *Ae. aegypti*, como foi disposto na metodologia sem escolha.

Esse é um dos poucos trabalhos que avaliam se um composto já conhecido na literatura como larvicida tem propriedade atrativa ou repelente para oviposição do *Ae. aegypti* (SILVA, 2012).

Entretanto, é o primeiro trabalho que verifica a atividade de oviposição do *Ae. aegypti* em *C. papaya*, composto com atividade larvicida bem estabelecida para este mosquito (KOVENDAN *et al.*, 2012), e também para o *Culex quinquefasciatus* (RAWANI *et al.*, 2009). Atividade moluscicida foi proposta por JAISWAL & SINGH (2007), larvicida para lepidópteros (PÉREZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2011), além das suas sementes possuírem atividade anti-helmíntica (WABO PONÉ *et al.*, 2011), o que evidencia a potencialidade de estudos relacionados a esta planta, muito cultivada nos países tropicais.

Os resultados encontrados neste trabalho vão ao encontro da necessidade de desenvolver mais estudos relacionados à oviposição, principalmente de compostos que são larvicidas, a exemplo, podemos mencionar o *Croton rhamnifolioides* (SANTOS *et al.*, 2014) e *Piper aduncum* (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

A maioria dos estudos de atratividade para oviposição estão relacionados às infusões orgânicas, consideradas atrativas devido à presença de bactérias em sua composição e sua associação aos ácidos carboxílicos (PONNUSAMY, *et al.*, 2008).

Entretanto, a maior discussão tem relação com as infusões elaboradas com gramíneas, com resultados considerando feno uma solução atrativa (ALLAN & KLINE, 1995; REITER *et al.*,1991) e, outros, com resultados evidenciando a baixa atratividade principalmente de concentrações abaixo de 10% (CHADEE *et al.*, 1993).

Desta forma, o estudo da possível atratividade para oviposição de compostos que sejam também larvicidas surgem como uma alternativa para trabalhos envolvendo estimativas populacionais e proporcionando vantagens logísticas na sua execução.

Nenhum dos resultados obtidos indicou a utilização da solução de *C. papaya* 10% como solução atrativa para oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*, ao contrário, todos eles evidenciaram atividade repelente desta solução. Assim, conclui-se que nessa concentração não é possível à utilização dessa solução em armadilhas do tipo ovitrampa. Em contrapartida, como a atividade larvicida da folha do *C. papaya* já é bem conhecida e, associada ao seu amplo e fácil cultivo em países tropicais, outras concentrações poderiam ser avaliadas quanto à atratividade para a oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti*.

## 7. CONCLUSÕES

Em relação ao controle positivo (água destilada), a solução de *C. papaya* 10% não é atrativa e, comparativamente, obteve os menores valores de oviposição pelas fêmeas de *Ae. aegypti*, sendo desaconselhável a sua utilização em armadilhas do tipo ovitrampa para este fim;

Maior retenção de ovos foi observada nos ovários das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da metodologia sem escolha, submetidas à solução de *C. papaya* 10% e no controle negativo (hipoclorito de sódio 1%);

Considerando a metodologia com escolha, a oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* sob a influência de *C. papaya* apresentou distribuição crescente ao longo dos três dias, comportamento diferente em relação ao controle positivo. Na metodologia sem escolha, houve maior oviposição no primeiro dia, semelhante ao controle positivo. Foi possível observar que na ausência de ambiente favorável à oviposição, as fêmeas de *Ae. aegypti* utilizam qualquer criadouro disponível;

O índice de atratividade de oviposição (OAI) indicou que a solução de *C. papaya* 10% não é atrativa e, pode ser considerada repelente à oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN S. A., KLINE D. L. Evaluation of organic infusions and synthetic compounds median oviposition in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Chemical Ecology**, **21**: 1847-1860. 1995.
- ARBAOUI A. A., CHUA T. H. Bacteria as a source of oviposition attractant for *Aedes aegypti* mosquitoes. **Tropical Biomedicine**, **31 (1)**: 134-142. 2014.
- 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**, **39**: 1016-1023. 2010.
- BARRERA R., AMADOR M., ACEVEDO V., HEMME R. R., FÉLIX G. Sustained, Area-Wide Control of *Aedes aegypti* Using CDC Autocidal Gravid Ovitraps. **American Journal of Tropical Medicine**, **91 (6)**: 1269-1276. 2014.
- BORGES, S. M. D. A. A. **Importância Epidemiológica do *Aedes albopictus* Nas Américas**. Dissertação de mestrado (Faculdade de Saúde Pública) – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2001.
- BRADY O. J., GOLDING N., PIGOTT D. M., KAEMER M. U. G., MESSINA J. P. REINER J. R. C. SCOTT T. W., SMITH D. L. GETHING P. W., HAY S. I. Global temperature constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* persistence and competence for dengue virus transmission. **Parasites & Vectors**, **7 (1)**: 338-349. 2014.
- CHADEE D. D., LAKHAN A., RAMDATH W. R., PERSAD R. C. Oviposition response of *Aedes aegypti* to different concentrations of hay infusion in Trinidad, West. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **9**: 346-348. 1993.
- DETINOVA T. S. **Age Grouping Methods in Diptera of Medical Importance with Special Reference to some Vectors of Malaria**. 216 p. 1962.
- DIBO M. R. **Comportamento de oviposição de *Aedes aegypti* em área endêmica de dengue do Estado de São Paulo**. Tese de doutorado (Ciências da Saúde) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto. São Paulo. 2003.

- DICK G. W., KITCHEN S. F., HADDOW A. J. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **46 (5)**: 509-20. 1952.
- EIRAS A. E., RESENDE M. C. Preliminary evaluation of the “Dengue-MI” technology for *Aedes aegypti* monitoring and control. **Caderno de Saúde Pública**, **25 (1)**: S45-S58, 2009.
- FAY R. W., PERRY A. S. Laboratory Studies of Ovipositional Preferences of *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, **25 (3)**: 276-281. 1965.
- FORATTINI O.P. **Culicidologia Médica**. 2 ed. 549 p. São Paulo, Brasil. 1996.
- JAISWAL P., SINGH D. K. Molluscicidal activity of *Carica papaya* and *Areca catechu* against the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. **Veterinary Parasitology**, **152**: 264-270. 2008.
- JUAN L., SECCACINI E., ZERBA E., LICASTRO S. A New Ovitrap Made of Slow Release Natural Materials Containing Pyroproxyfen for *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) Control. **Journal of Medical Entomology**, **50 (4)**: 916-919. 2013.
- KOVENDAN K., MURUGAN K., KUMAR A. N., VINCENT S., HWANG J. S. Bioefficacy of larvicidal and pupicidal properties of *Carica papaya* (Caricaceae) leaf extract and bacterial insecticide, spinosad, against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, **110**: 669-678. 2012.
- KRAMER L.W., MULLA S.M. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition responses of *Culex* mosquito to organic infusions. **Environment Entomology**, **8**: 1111-1117. 1979.
- KRISHNA K. L., PARIDHAVI M., PATEL J. A. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). **Natural Product Radiance**, **7 (4)**: 364-373. 2008.
- LOPES T. F., HOLCMAN M. M., BARBOSA G. L., DOMINGOS M. F., BARREIROS R. M. O. V. Laboratory Evaluation of the Development of *Aedes aegypti* in Two Seasons: Influence of Different Places and Different Densities. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **56 (5)**: 369-374. 2014.

- MACKAY A. J., AMADOR M., BARRERA R. An improved autocidal gravid ovitrap for the control and surveillance of *Aedes aegypti*. **Parasites & Vectors**, **6**: 225-237. 2013.
- MACORIS M. L. G., ANDRIGHETTI M. T. M., WANDERLEY D. M. V., RIBOLLA P. E. M. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **47 (5)**: 573-578. 2014.
- MANN H. B., WHITNEY D. R. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. **The Annals of Mathematical Statistics**, **18 (1)**: 50-60. 1947.
- MATTINGLY, P. F., STONE, A., KNIGHT, K. L. *Culex aegypti* Linnaeus, 1762 (Insecta, Diptera); proposed validation and interpretation under the plenary powers of the species so named. **Bulletin of Zoological Nomenclature**, **19 (4)**: 208-220. 1962.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE - FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Dengue: Manual para Pessoal de Combate ao Vetor, Manual de Normas Técnicas**. 3 ed. 84 p. Brasília, Brasil. 2001.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE – SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya até a Semana Epidemiológica 34, 2015. **Boletim Epidemiológico**, **46 (28)**: 1-7. 2015.
- MOGI M., MOKRY J. Distribution of *Wyeomyia smithii* (Diptera: Culicidae) eggs in pitcher plants in Newfoundland, Canada. **Tropical Medicine**, **22**: 1-12. 1980.
- 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). **Journal of Applied Entomology**, **127**: 46-50. 2003.
- NORMILE D. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. **Science**, **342 (6157)**: 415. 2013.
- OLIVEIRA G. L., CARDOSO S. K., LARA JÚNIOR 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**, **85 (4)**: 1227-1234. 2013.

PÉREZ-GUTIÉRREZ S., ZAVALA-SANCHEZ M. A., GONZÁLEZ-CHÁVEZ M. M., CÁRDENAS-ORTEGA N. C., RAMOS-LÓPEZ M. A. Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Molecules**, **16**: 7502-7509. 2011.

PONNUSAMY L., XU N., NOJIMA S., WESSON D.M., SCHAL C., APPERSON C.S. Identification of bacteria and bacteria-associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **105**: 9262-9267. 2008.

RAWANI A., HALDAR K. M., GHOSH A., CHANDRA G. Larvicidal activities of three plants against filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, **105**: 1411–1417. 2009.

REITER P., AMADOR M. A., COLON N. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **7**: 52-55. 1991.

RITCHIE S. A. Efficacy of Australian Quarentine Procedures Against the Mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **17 (4)**: 114-117. 2001.

SANTOS E. M. M., ALBUQUERQUE C. M. R. **Resposta de oviposição de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) a diferentes infusões orgânicas em ovitrapas.** Universidade Federal de Pernambuco - Pernambuco, Brasil. 2006.

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

SANTOS N. D. L., PAIXÃO K. S., NAPOLEÃO T. H., TRINDADE P. B., PINTO M. R., COELHO L. C. B. B., EIRAS A. E., NAVARRO D. M. A. F., PAIVA P. M. G. Evaluation of *Moringa oleifera* seed lectin in traps for the capture of *Aedes aegypti* eggs and adults under semi-field conditions. **Parasitology Research**, **113 (5)**: 1837-1842. 2014.

SCHILTE C., SAIKOWSKY F., STAIKOVSKY F., COUDERC T., MADEC Y., CARPENTIER F., KASSAB S., ALBERT M. L., LECUIT M., MICHAULT A. Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. **PLoS neglected tropical diseases**, **7 (3)**: e2137. 2013.

SILVA P. C. B. **Caracterização química, atividade larvicida e deterrente de oviposição do óleo essencial da inflorescência do Bastão do Imperador (*Etlíngera elatior*) frente à *Aedes aegypti***. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 2012.

TORRES S. M., CRUZ N. L. N., ROLIM V. P. M., CAVALCANTI M. I. A., ALVES L. C., JÚNIOR V. A. S. Cumulative mortality of *Aedes aegypti* larvae treated with compounds. **Revista de Saúde Pública**, **48 (3)**: 445-450. 2014.

TUKEY J. W. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, **5 (2)**: 99-114. 1949.

VAREJÃO J. B. M., SANTOS C. B., 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**, **38**: 238-240. 2005.

WABO PONÉ J., NGANKAM NTEMAH J. D., BILONG BILONG C. F., MPOAME MBIDA. A comparative study of the ovicidal and larvicidal activities of aqueous and ethanolic extracts of pawpaw seeds *Carica papaya* (Caricaceae) on *Heligmosomoides bakeri*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, **4 (6)**: 447-450. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue Guideline for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control**. 146 p. Genebra, Suíça. 2009.