



**Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PROPPG**  
**Instituto de Engenharia e Desenvolvimento Sustentável - IEDS**  
**Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis - MASTS**

**GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA**

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE  
EXTRATOS OBTIDOS DE *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia  
grandiflora* SOBRE *Aedes albopictus* (SKUSE, 1894) (DIPTERA:CULICIDAE).**

**REDENÇÃO – CEARÁ**

**2018**

**GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA**

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE  
EXTRATOS OBTIDOS DE *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia  
grandiflora* SOBRE *Aedes albopictus* (SKUSE, 1894) (DIPTERA:CULICIDAE).**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis.

Orientador: Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins

Co-orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Caroline de Goes Sampaio

**REDENÇÃO – CEARÁ**

**2018**

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Sistema de Bibliotecas da UNILAB  
Catalogação de Publicação na Fonte.

---

Viana, Glautemberg de Almeida.

V667p

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE  
EXTRATOS OBTIDOS DE *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e  
*Cryptostegia grandiflora* SOBRE *Aedes albopictus* SKUSE, 1894  
DIPTERA:CULICIDAE / Glautemberg de Almeida Viana. - Redenção, 2019.  
102f: il.

Dissertação - Curso de Sociobiodiversidade E Tecnologias  
Sustentáveis, Mestrado Acadêmico Em Sociobiodiversidade E  
Tecnologias Sustentáveis, Universidade da Integração Internacional  
da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins.  
Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Caroline de Goes Sampaio.

1. *Aedes albopictus*. 2. Atividade larvicida. 3. Fitoquímicos.  
4. Extratos vegetais. I. Título

CE/UF/BSCL

CDD 000

---

GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE EXTRATOS OBTIDOS DE *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia grandiflora* SOBRE *Aedes albopictus* (SKUSE, 1894) (DIPTERA:CULICIDAE).**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito final para obtenção do título de Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis.

**Orientador:** Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins.

**Co-orientador (a):** Prof<sup>a</sup>. Dra. Caroline de Goes Sampaio.

Aprovado em: 20 / 12 / 2018

**BANCA EXAMINADORA**

*Victor Emanuel Pessoa Martins*

Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins (Orientador)  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

*Caroline de Goes Sampaio*

Prof<sup>a</sup>. Dra. Caroline de Goes Sampaio (Co-orientadora)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

*Aluisio Marques da Fonseca*

Prof. Dr. Aluisio Marques da Fonseca (Membro Interno)  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

*João Sammy Nery de Souza*

Prof. Dr. João Sammy Nery de Souza (Membro Externo)  
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

“Todo mundo é um gênio. Mas, se você julgar um peixe por sua capacidade de subir em uma árvore, ela vai gastar toda a sua vida acreditando que ele é estúpido”.  
(Albert Einstein)

“A simplicidade é o último degrau da sabedoria”.  
(Khalil Gibran)

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial meu filho Marcus Vinícius e minha esposa Luciana Pereira que incentivou e apoiou todas as minhas decisões, torcendo incondicionalmente pelo meu sucesso e minha felicidade.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que guiou minhas escolhas, me concedeu sabedoria e determinação para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Nedilson Viana (*in memorian*) e Margarida Viana (*in memorian*), que, quando estiveram presentes, sempre priorizaram minha educação e me apoiaram em todos os momentos.

À minha tia Vilany e aos meus avós José Batista (*in memorian*) e Joana Rodrigues (*in memorian*), por terem me acolhido e dedicado todo o seu amor e carinho na ausência de meus pais.

À minha esposa Luciana, pelo incentivo e compreensão.

Ao meu filho Marcus Vinícius, pelo apoio, incentivo e compreensão quando em suas horas vagas o papai se encontrava em seus experimentos e/ou escrevendo.

Aos meus irmãos Guttemberg, Janaina e Jacqueline, que desde o início torceram por mim.

Ao professor Victor Emanuel Pessoa Martins, que mesmo sem me conhecer previamente aceitou ser meu orientador e acreditou que seria possível desenvolver um belo projeto de Mestrado.

Ao Laboratório Dr. Thomaz Correa Aragão, localizado no Núcleo de Controle de Vetores (NUVET) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA-CE), especialmente ao Lindemberg Caranha (Biólogo), Airton Barbosa (Técnico) e José Maria (Técnico) pela oportunidade, incentivo, aprendizado e confiança, quanto ao manejo de Culicídeos em laboratório.

Aos colaboradores do laboratório de Entomologia Médica da UFC, em especial aos Técnico (a)s: Verinha, Belta e Hugo, por ter ajudado na manutenção das colônias de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

Ao professor Sammy Nery, da Universidade Federal do Piauí, que gentilmente forneceu os extratos vegetais utilizados no estudo e por ter aceitado a compor a banca da minha defesa e contribuir com suas considerações.

Aos colegas de mestrado em especial Jonathas e Joilna, que compartilharam as ida vindas de Fortaleza a Redenção e das mesmas experiências e angústias, valeu a pena!

Ao secretário Edson, pela competência, colaboração e dedicação em atender bem todos os alunos do Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis (MASTS).

À Profa. Dra. Caroline de Goes Sampaio e ao Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca, por terem aceitado o convite de participarem como co-orientadora e membro da banca desta defesa e de contribuir para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca que ao longo do curso, compartilhou vários conhecimentos e por ter aceitado o convite de participar como membro da banca da minha defesa de Mestrado.

A Keline, aluna do curso de química do Instituto Federal do Ceará, Campus Maracanaú, pelo treinamento realizado no instituto sobre os testes larvicidas e fitoquímicos.

A todos os professores do MASTS, a que muitos dedicaram seus tempos, transmitindo conhecimentos, assim contribuindo para mais um passo importante na vida de cada alunos.

Ah! Como deixar de agradecer aos meus colegas de trabalho, em especial Gerluse, Adriana Claudia, Adriana Matos, Dr. Roberto, Coelho, Sandra Regina e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Goretti pessoas a quem considero como membros de minha família. Pois, por muito tempo se dedicaram e ajudaram, segurando o trampo na minha ausência, principalmente em dias lotados de pacientes no laboratório.

Aos professores e amigos Daniel Freire e Jamile, pelo incentivo a fazer a seleção do mestrado na UNILAB.

Também agradeço a Universidade Federal do Ceará (UFC), através do Laboratório de Entomologia Médica, coordenado pelo professor Dr. Carlos Henrique Morais de Alencar, do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina, onde foi desenvolvido toda a parte de estabelecimento e manutenção das colônias de *Aedes albopictus*.

Ao amigo Prof. Msc. Alzeir que mesmo distante contribuiu com as análises estatísticas deste trabalho.

## RESUMO

Os mosquitos estão intimamente relacionados com a transmissão de uma gama distinta de patógenos para o homem e outros animais. O *Aedes albopictus* tem ganho especial destaque com a transmissão de algumas arboviroses, como a dengue e a febre chikungunya. Desta maneira, diversas estratégias têm sido direcionadas ao controle de vetores, dentre elas, o controle utilizando produtos naturais de origem vegetal, cujas principais vantagens encontram-se na biodegradação e atividade específica. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo realizar a prospecção fitoquímica e avaliar a atividade larvicida e antioxidante dos extratos brutos e frações de *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia grandiflora* para o controle de *Ae. albopictus* em condições de laboratório. Os extratos brutos foram obtidos por meio da imersão das amostras em álcool etílico durante vinte dias, seguido da eliminação do solvente por evaporador rotativo à vácuo. Em seguida, as frações foram obtidas através de cromatografia líquida em coluna, utilizando sílica gel 60 e os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Todas as amostras foram submetidas à prospecção fitoquímica, utilizando reveladores específicos. Além disso, foi identificado o potencial antioxidante dos extratos, frente ao radical livre DPPH. Para avaliar atividade larvicida foram utilizados extratos bruto e frações vegetais nas concentrações 1000, 500, 400, 300 e 250 ppm sobre larvas de 3º e 4º estágio de *Ae. albopictus*. A mortalidade foi verificada após 24h e 48h da aplicação dos produtos, assim como também a concentração capaz de matar 50% das larvas. Os estudos fitoquímicos revelaram a presença dos constituintes tanino flobabênicos em todos os extratos brutos, e esteroides livres nas frações FCEB e FCEG, além de saponinas na fração FHEB. As  $CL_{50}$  obtidas para os extratos bruto de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* foram, respectivamente, de 316,83 µg/mL, 548,54 µg/mL e 547,08 µg/mL. Em relação às frações FHEB, FCEB, FAEEB, FCEJ e FCEG apresentaram  $CL_{50}$  de 316,83 µg/mL, 291,56 µg/mL, 592,49 µg/mL, 279,88 µg/mL e 661,33 µg/mL, respectivamente. Deste modo, os produtos naturais que manifestaram uma maior atividade sobre as larvas de *Ae. albopictus* foram as frações clorofórmicas de *H. suaveolens* e *I. cairica*. Na determinação dos fenólicos totais, os extratos EBEB, EBEJ e EBEG, apresentaram teores fenólicos de 24,52 mg AG/g, 17,32 mg AG/g e 15,53 mg AG/g, respectivamente. Com relação às atividades antioxidantes, o extrato bruto de *H. suaveolens* apresentou mais atividade antioxidante, equivalente a 166,89 µmol quercentina/g.

**Palavras-chaves:** *Aedes albopictus*. Atividade larvicida. Fitoquímicos. Extratos vegetais.

## ABSTRACT

The mosquitoes are closely related to the transmission of a distinct range of pathogens to man and other animals. The *Aedes albopictus* has gained special prominence with the transmission of some arboviruses, such as dengue and chikungunya fever. In this way, several strategies have been directed to the control of the vectors, among them, the vector control using natural products of vegetal origin, whose main advantages are in characteristics such as biodegradation and specific activity. Thus, the present study had as objective to perform the phytochemical prospection and to evaluate the larvicidal and antioxidant activity of the crude extracts and fractions of *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* and *Cryptostegia grandiflora* for the control of *A. albopictus* under laboratory conditions. The crude extracts were obtained by immersing the samples in ethyl alcohol for twenty days, followed by removal of the solvent by a rotary evaporator under vacuum. The fractions were then obtained by liquid column chromatography using silica gel 60 and the solvents, hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. All the samples were submitted to phytochemical prospection, using specific developers. In addition, the antioxidant potential of the extracts against the free radical, DPPH. For larvicidal activity, crude extracts and plant fractions were used in the concentrations 1000, 500, 400, 300 and 250 ppm on larvae of 3rd and 4th *Ae. albopictus*. Mortality was verified after 24h and 48h of application of the products, as well as the concentration capable of killing 50% of the larvae. The CL<sub>50</sub> obtained for the crude extracts of *H. suaveolens*, *I. cairica* and *C. grandiflora* were respectively 316.83 µg/mL, 548.54 µg/mL and 547.08 µg/mL. Regarding to the FHEB, FCEB, FAEEB, FCEJ and FCEG fractions, the CL<sub>50</sub> was 316.83 µg/mL, 291.56 µg/mL, 592.49 µg/mL, 279.88 µg/mL and 661.33 µg/mL, respectively. In this way, the natural products that showed a greater activity on the larvae of *A. albopictus*, were the chloroform fractions of *H. suaveolens* and *I. cairica*. The phytochemical studies revealed the presence of flobabenic tannin constituents in all crude extracts, and free steroids in FCEB and FCEG fractions, as well as saponins in the FHEB fraction. In the determination of the total phenolics, the extracts EBEB, EBEJ and EBEG, presented phenolic contents of 24.52 mg AG/g, 17, 32 mg AG/g and 15.53 mg AG/g, respectively. Regarding the antioxidant activities, the crude extract of *H. suaveolens* presented more antioxidant activity, equivalent to 166.89 µmol quercetin/g.

**Keywords:** *Aedes albopictus*, Larvicidal activity. Phytochemicals. Vegetable extract.

## ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

Aa	<i>Aedes albopictus</i>
ACE	Agente de Combate a Endemias
AChE	Acetilcolinesterase
AcOEt	Acetato de etila
ACS	Agente Comunitário de Saúde
BHC	Benzeno Hexachloride
BPU	Benzoil-fenil-uréias
Bs	<i>Bacillus sphaericus</i>
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
Ca <sup>2+</sup>	Íon Cálcio
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CHIKV	Vírus da Chikungunya
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal Média
CTNBIO	Comissão Técnica Nacional De Biossegurança
DDT	Dicloro-Difenil-Tricloroetano
DENV	Vírus da dengue
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPML	Departamento de Patologia e Medicina Legal
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol
F1	Geração (F1)
FA	Febre Amarela
FACEBA	Fração Acetato de Etila do Bamburral
FCLOBA	Fração Clorofórmica do Bamburral
FCLOGR	Fração Clorofórmica do Grajaú
FCLOJI	Fração Clorofórmica da Jitirana
FeCl	Cloreto Férrico
FHEXBA	Fração Hexânica do Bamburral
FMETBA	Fração Metanólica do Bamburral
FMETGR	Fração Metanólica do Grajaú
FMETJI	Fração Metanólica da Jitirana

FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
HCl	Ácido Clorídrico
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1
HTLV-III	Vírus linfotrópico da célula humana tipo 3
HV-JBRJ	Herbário Virtual do Jardim Botânico do Rio de Janeiro
IGR's	Insect Growth Regulators
NaOH	Hidróxido de Sódio
NUVET	Núcleo de Controle de Vetores
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPs	Organofosforados
PCND	Programa Nacional de Controle da Dengue
pH	Potencial hidrogeniônico
PIE	Período de Incubação Extrínseco
PII	Período de Incubação Intrínseco
ppm	Partes por milhão
SESA-CE	Secretaria de Saúde do Estado do Ceará
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFPI	Universidade Federal do Piauí
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-
UV	Ultravioleta
WHO	World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)
ZIKV	Zika vírus

## LISTA DE FIGURAS E ESQUEMAS

<b>Figura 1</b>	Diferenças morfológicas de larvas, pupas e adultos de <i>Aedes aegypti</i> (A) e <i>Aedes albopictus</i> (B). <b>A1:</b> espículas laterotorácicas (bastante desenvolvidas), <b>B1:</b> espículas laterotorácicas (pouco desenvolvidas); <b>A2:</b> palhetas natatórias de pupas (ausência de cílios), <b>B2:</b> palhetas natatórias de pupas (presença de cílios); <b>A3:</b> mesonoto com escamas brancas em forma de lira, <b>B3:</b> mesonoto com escamas brancas com apenas uma faixa longitudinal presente.....	23
<b>Figura 2</b>	Registro da distribuição do <i>Aedes albopictus</i> no Brasil (1986-2016) .....	24
<b>Figura 3</b>	Esquema representativo do Ciclo de transmissão biológica.....	27
<b>Figura 4</b>	Características morfológicas de <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.....	37
<b>Figura 5</b>	Características morfológicas de <i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet.....	39
<b>Figura 6</b>	Característica morfológica <i>Cryptostegia grandiflora</i> R. Br.....	42
<b>Figura 7</b>	Exsicatas das estruturas aéreas de <i>H. suaveolens</i> (A), <i>I. cairica</i> (B) e <i>C. grandiflora</i> (C) utilizadas na identificação e caracterização das folhas para preparação dos extratos.....	46
<b>Figura 8</b>	Curva de calibração de fenólicos totais utilizando o método do Folin-Ciocalteu.....	52
<b>Figura 9</b>	Curva de a atividade antioxidante pelo método do DPPH, utilizando o padrão quercetina.....	53
<b>Figura 10</b>	Esquema representativo de atividades de manutenção de colônia de <i>Aedes albopictus</i> . A – Momento de imersão em água dos ovos obtidos da colônia. B – Pupas sendo distribuídas em recipientes plásticos de 50mL (1), utilizando-se uma pipeta Pasteur (2). C – Gaiola para manutenção das formas aladas, que utilizam como alimento a solução açucarada (seta).....	55
<b>Figura 11</b>	Esquema representativo dos bioensaios larvicidas com os extratos brutos e as frações de <i>H. suaveolens</i> (bamburral), <i>I. cairica</i> (jitirana) e <i>Cr. grandiflora</i> (grajaú).....	56
<b>Figura 12</b>	Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tipo de larvicida natural.....	62
<b>Figura 13</b>	Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tempo de exposição.....	62
<b>Figura 14</b>	Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação larvicida x tempo de exposição.....	63

<b>Figura 15</b>	Mortalidade das larvas de <i>Ae. albopictus</i> nas três melhores frações (FHEB, FCEB e FCEJ) analisadas no intervalo de leitura de 24 horas.....	65
<b>Figura 16</b>	Mortalidade das larvas de <i>Ae. albopictus</i> nas três melhores frações (FHEB, FCEB e FCEJ) analisadas no intervalo de leitura de 48 horas.....	67
<b>Figura 17</b>	Reação qualitativa colorimétrica indicando a presença de taninos flavobênicos nos extratos brutos etanólico do Grajaú (A), Jitirana (B) e Bamburral (C) respectivamente.....	74
<b>Figura 18</b>	Análise fitoquímica qualitativa colorimétrica indicando a presença de esteroides livres nas frações FCEB (A) e FCEG (B).....	76
<b>Figura 19</b>	Análise fitoquímica qualitativa colorimétrica indicando a presença de saponina na fração FHEB (A).....	77
<b>Esquema 1</b>	Esquema representativo para obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>C. grandiflora</i> .....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Extratos e óleos essenciais obtidos de distintas partes vegetais e seu efeito larvívica sobre <i>Aedes albopictus</i> 2000 a 2016.....	33
<b>Tabela 2</b>	Rendimento dos Extratos bruto e frações das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>C. grandiflora</i> .....	57
<b>Tabela 3</b>	Resultados dos bioensaios seletivos com os extratos fracionados das folhas do bamburral, jiterana e grajaú contra larvas de <i>Aedes albopictus</i> .....	59
<b>Tabela 4</b>	Valores de CL50 e CL90 das frações do bamburral, jiterana e grajaú contra larvas de <i>Ae. albopictus</i> após 24 horas de exposição.....	64
<b>Tabela 5</b>	Valores de CL50 e CL90 das frações do bamburral, jiterana e grajaú contra larvas de <i>Ae. albopictus</i> após 48 horas de exposição.....	66
<b>Tabela 6</b>	ANOVA fatorial de uma via completamente aleatorizada utilizando diferentes concentrações, períodos de exposição e diferentes amostras como variáveis para folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	68
<b>Tabela 7</b>	Diferença estatística entre as médias dos grupos (Teste <i>Post Hoc</i> “Tukey HSD”) de extratos e frações de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> sobre a mortalidade das larvas de <i>Ae. albopictus</i> em um intervalo de tempo de 24 e 48 horas de exposição.....	69
<b>Tabela 8</b>	Resultado dos testes fitoquímicos das frações <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	73
<b>Tabela 9</b>	Teores de fenólicos totais presentes nos extratos bruto das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	78
<b>Tabela 10</b>	Teores de antioxidantes presentes nos extratos bruto das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	79

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
2.1 Insetos e seu papel na transmissão de patógenos aos humanos.....	21
2.2 Introdução e expansão do <i>Ae. albopictus</i> no Brasil e os riscos a ela associados.....	22
2.3 Estratégias utilizadas para o controle de insetos vetores de patógenos .....	27
2.3.1 Controle químico .....	29
2.3.3 Produtos naturais como alternativas ao controle de insetos vetores de patógenos...31	
2.4 <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.....	36
2.5 <i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet.....	39
2.6 <i>Cryptostegia grandiflora</i> R. Br. ....	40
2.7 Justificativa .....	44
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>45</b>
3.1 Geral .....	45
3.2 Específicos.....	45
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
4.1 Estrutura vegetal utilizada.....	46
4.2 Processamento das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	46
4.3 Obtenção dos extratos brutos etanólico e frações das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	47
4.4 Fracionamento dos extratos brutos etanólico e frações das folhas de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	48
4.5 Prospecção dos constituintes químicos dos extratos brutos e frações de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	48
4.5.1 Teste para fenóis e taninos.....	49
4.5.2 Teste para antocianina, antocianidinas e flavonoides.....	49
4.5.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.....	50
4.5.4 Teste para flavonóis, flavonas, flavanonóis e xantonas.....	50
4.5.5 Teste para esteroides e triterpenoides (Lieberman-Burchard).....	50
4.5.6 Teste para saponinas.....	51
4.5.7 Teste para alcaloides.....	51
4.6 Determinação dos fenólicos totais utilizando o método Folin-Ciocalteu.....	51

4.7 Determinação da atividade antioxidante pelo método do radical livre 2,2 diphenil-1 - picrilhidraxil (DPPH) .....	53
4.8 Obtenção dos ovos de <i>Ae. albopictus</i> .....	54
4.9 Estabelecimento e manutenção das larvas, e identificação de adultos de <i>Aedes albopictus</i> .....	54
4.10 Atividade larvicida do extrato bruto e frações <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	55
4.11 Análises estatístico dos dados.....	56
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
5.1 Rendimento das extrações dos extratos bruto e frações de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	57
5.2 Avaliação da atividade larvicida dos extratos bruto e frações de <i>H. suaveolens</i> , <i>I. cairica</i> e <i>Cr. grandiflora</i> .....	58
5.2.1 Bioensaio de dose. ....	58
5.3 Prospecção fitoquímica.....	73
5.3.1 Teste para fenóis e taninos.....	74
5.3.2 Teste para antocianina, antocianidinas e flavonoides.....	75
5.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.....	76
5.3.4 Teste para esteroides e triterpenoides (Liebermann- Buchard) .....	76
5.3.5 Teste para saponinas.....	77
5.3.6 Teste para alcaloides.....	78
5.4 Determinação dos fenólicos totais (FT) pelo método Folin-Ciocalteu.....	78
5.5 Determinação da Atividade antioxidante pelo método DPPH .....	79
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os mosquitos são os vetores mais importantes na transmissão de doenças às populações humanas, transmitindo um vasto número de patógenos a mais de 700.000.000 pessoas a cada ano (GHOSH *et al.*, 2012). Esses vetores são considerados os seres vivos mais numerosos do planeta, existindo pouco mais de 3000 espécies descritas, sendo grande parte delas de interesse econômico e outras de importância médica e sanitária (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). Dentre as espécies de mosquitos descritas, as do gênero *Aedes* são capazes de transmitir vários tipos de doenças. Em particular, o mosquito *Aedes aegypti* (L.) é considerado um importante vetor na transmissão de doenças ao homem, tais como Dengue (DEN), Chikungunya (CHIK), Zika (ZIK) e a Febre amarela urbana (FAU) (COSTA *et al.*, 2005; CHENG *et al.*, 2009; PERUMALSAMY *et al.*, 2009; TRINDADE *et al.*, 2013).

O *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) é, assim como o *Ae. Aegypti*, um mosquito estrangeiro. Especula-se que sua entrada em território brasileiro esteve relacionada ao comércio marítimo de minério de ferro com o Japão (FORATTINI *et al.*, 1986). Uma espécie alóctone no continente americano, o *Ae. albopictus* é originário da Ásia, onde age também como vetor na transmissão do vírus da dengue, em áreas rurais e urbanas, e do vírus da encefalite japonesa (SEGURA *et al.*, 2003). Nas últimas três décadas, o ambiente urbano cada vez mais tem oferecido condições para a instalação e permanência do *Ae. albopictus*, no qual, inclusive, é possível observar uma forte tendência de sobreposição de nichos em relação ao *Ae. aegypti* (MARTINS *et al.*, 2010). A gradual aquisição de comportamento doméstico intradomiciliar tende a modificar o padrão da atividade hematofágica do *Ae. albopictus*, considerada predominantemente oportunista. Com isso, pode-se elevar os riscos de transmissão de doenças às populações humanas (DIENG *et al.*, 2010), tendo em vista à sua competência em infectar-se e transmitir, sob condições laboratoriais, 22 tipos distintos de arbovírus (ROSEN *et al.*, 1985, MOORE; MITCHEL, 1997; MARTINS *et al.*, 2013), bem como outros patógenos, o que torna o seu registro um fato epidemiologicamente importante.

As dificuldades inerentes à produção de uma vacina que seja eficaz contra os quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV), chikungunya (CHIKV) e zika (ZIKV) têm direcionado as ações de prevenção dessas doenças para o controle de seus vetores (ROSA *et al.*, 2016). Por muitos anos, o controle das populações de espécies do gênero *Aedes* tem sido feito essencialmente através do uso de inseticidas químicos sintéticos, derivados de compostos orgânicos e inorgânicos, tais como organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides.

Dentre as classes de inseticidas químicos citados, os organofosforados (fenitrothion, malation e temefos) e os piretroides (deltametrina, lambda-cialotrina e ciflutrina), configuram entre os compostos sintéticos mais utilizados no controle de insetos. (FURTADO *et al.*, 2005; AMARILES-BARRERA *et al.*, 2013). O organofosforado (OP) temefos, de instabilidade química e alta toxicidade a vertebrados, é utilizado de forma contínua como larvicida para o tratamento focal de criadouros do mosquito, inclusive aqueles destinados ao armazenamento de água potável (CHAVASSE; YAP, 1997). Já os piretroides deltametrina e cipermetrina são utilizados para o controle de mosquitos adultos (BRAGA; VALLE, 2007b; TEIXEIRA *et al.*, 2005).

Durante os últimos 30 anos, os inseticidas sintéticos foram usados intensivamente no controle de *Ae. aegypti* no Brasil. O uso frequente e indiscriminado desses compostos, porém, tem causado poluição ambiental, desestabilização nas relações entre os elementos dos ecossistemas, prejuízos à saúde do homem e de outros organismos não-alvos, além de contribuir para a seleção de linhagens resistentes desse mosquito (JIRAKANJANAKIT *et al.*, 2007; SARWAR *et al.*, 2009; ACIOLE *et al.*, 2011; SANTANA *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016). Como consequência da grande pressão de seleção, o primeiro caso de populações de mosquitos resistentes à inseticidas sintéticos no país foi registrado em 1995 em espécimes procedentes de Goiás (MACORIS *et al.*, 1995). Desde então, estudos posteriores conduzidos pelo Ministério da Saúde (1999, 2000 e 2003) confirmaram que as populações de *Ae. aegypti*, em praticamente todo o território brasileiro, apresentavam resistência ao temefos (BRASIL, 1999, BRAGA *et al.*, 2004; BRASIL, 2000; 2005; 2009a;). Além disso, estudos realizados pelo Grupo Técnico Assessor para o Programa de Monitoramento da Resistência de *Ae. aegypti* aos Inseticidas (MoReNAa) demonstraram que populações brasileiras desse vetor encontravam-se resistentes a todas as classes de inseticidas sintéticos testadas. Desta maneira, alguns critérios foram estabelecidos visando ao manejo da resistência na população de *Ae. aegypti*, como a substituição do larvicida químico pelo biolarvicida *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), e o monitoramento de resistência através de bioensaios e testes bioquímicos de uma forma sistemática (BRASIL, 2009a). Apesar desses critérios definidos pelo MoReNAa terem sido postos em prática, estes não foram empregados a tempo para resultar na reversão da resistência nas populações de *Ae. aegypti* (BRASIL, 2005; MELO-SANTOS *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2011).

Em consequência da alta resistência dos insetos aos inseticidas sintéticos, estudos têm direcionado as atenções para a prospecção de novos inseticidas, sobretudo aqueles de ocorrência natural (ANSARI *et al.*, 2000). Nas últimas décadas, pesquisas baseadas no uso de

produtos naturais de origem vegetal como inseticidas têm ganho notável relevância, em virtude de estes constituírem fontes de compostos bioativos e biodegradáveis (JANTAN *et al.*, 2005). Neste sentido, extratos e óleos essenciais obtidos de plantas têm sido sugeridos como fontes alternativas para o controle de populações de insetos, tendo em vista o fato de que alguns exibem ação seletiva, são biodegradáveis a compostos não-tóxicos e causam poucos efeitos em organismos não-alvos, além de possuírem ações fago-inibidora, repelente, inseticida, larvicida, dentre outras (ISMAN, 2006; GOMES *et al.*, 2016). Acredita-se que os inseticidas de origem vegetal provavelmente contêm fitoquímicos, os quais são predominantemente metabólitos secundários produzidos pelas plantas, visando à proteção contra o ataque de insetos herbívoros e possíveis parasitas (SHAALAN *et al.*, 2005; SHARMA *et al.*, 2009; CORRÊA; SALGADO, 2011).

Tendo em vista o potencial apresentado pelos vegetais no contexto do controle de insetos vetores de patógenos, as espécies *Hyptis suaveolens* (bamburral), *Ipomoea cairica* (jitéirana) e *Cryptostegia grandiflora* (grajáú) vêm sendo investigadas quanto ao seu potencial biológico. Na medicina popular, essas plantas são amplamente utilizadas, mas poucas informações são encontradas na literatura sobre suas atividades contra insetos vetores.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Insetos e seu papel na transmissão de patógenos aos humanos

Os insetos são os seres vivos mais abundantes do nosso planeta. Estima-se que entre 5 a 15 mil espécies de insetos são consideradas nocivas por transmitirem doenças (mosquitos, moscas), danificarem construções (térmitas) ou destruïrem colheitas (gafanhotos, gorgulhos).

Muitas vezes, o aumento populacional de alguns insetos é favorecido por atividades ligadas ao homem. Dentre elas, o desmatamento, a criação intensiva de animais, as condições inadequadas de escoamento de águas, a remoção de dejetos e lixos, bem como as condições precárias de moradia, têm modificado muito o meio ambiente, causando grandes alterações nos hábitos de vida desses animais (MESSIAS, 2011; FINKLER, 2012). A convivência com outros animais favorecida por tais fatores têm trazido incômodos, desconfortos e até doenças.

Adaptados aos mais diversos ambientes, das florestas às áreas urbanizadas, muitos insetos atuam como vetor na transmissão de agentes patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) ao homem e a outros vertebrados, como *Anopheles* (Malária), *Culex* (Filariose), *Aedes* (Dengue, Zika e Chikungunya), *Haemagogus* (Febre amarela) e espécies de triatomíneos (Doença de Chagas) (FORATTINI, 1962, 1986; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; ELDRIDGE; EDMAN, 2000; FORATTINI, 2002; SERVICE, 2004; OLIVEIRA, 2011; DIAS et al., 2011; DONALISIO et al., 2017).

O gênero *Aedes* apresenta aproximadamente 900 espécies distribuídas em 44 subgêneros (CLEMENTS, 2012), dentre os quais o *Stegomyia* apresenta duas espécies de grande importância epidemiológica, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (ZARA et al., 2016).

O *Aedes aegypti* é considerado o principal vetor responsável pela transmissão de arboviroses no Brasil. Nativo do Egito, na África, o *Ae. aegypti* tem se tornado uma espécie cosmopolita pela grande capacidade em invadir e se adaptar aos mais distintos ecótopos, principalmente em áreas tropicais e subtropicais do globo (ZARA et al., 2016).

A capacidade em adaptar-se a vários tipos de criadouros (naturais e artificiais) e proximidade com o meio urbano, são alguns dos fatores que pudessem contribuir para rápida dispersão do *Ae. aegypti*, onde conseqüentemente aumentaria sua competência vetorial, ou seja, a sua habilidade em tornar-se infectado e transmiti-lo (ZARA et al., 2016; LIMA-CAMARA et al., 2016). Essa competência pode ser demonstrada em um único ciclo gonadotrófico, em que a fêmea consegue fazer ingestões múltiplas de sangue, assim ampliando, sua capacidade de se

infectar e de transmitir os vírus. Com este comportamento o *Ae. aegypti* tem se tornado um vetor bastante eficiente (SCOTT *et al.*, 1993; GOMES *et al.*, 2006; GUEDES, 2012).

No Brasil, o *Ae. aegypti* é o vetor de doenças com grande incidência e que está no centro atual de epidemias, como dengue, zika, chikungunya e febre amarela urbana (LOURENÇO *et al.*, 2017). A dinâmica da transmissão dessas doenças exige uma relação intensa entre as características ecológicas e biológicas desses vetores, assim como também, as variáveis ambientais (chuva, temperatura, mudanças demográficas e umidade) tem influenciado no desenvolvimento e no ciclo de vida deste mosquito (GUEDES, 2012; LOURENÇO *et al.*, 2017).

Daí estudar as características intrínsecas do *Ae. aegypti*, caracterizando a competência vetorial, é de fundamental importância para determinar o papel do vetor na transmissão de patógenos (MARQUARDT, 2004). Isso porque outras espécies do gênero *Aedes* como *Ae. albopictus* tem demonstrado hábitos comportamentais que se assemelham ao *Ae. aegypti*, pois, aceita-se a hipótese de que o *Ae. albopictus* foi fundamentalmente uma espécie selvagem que reproduzia e nutria-se nas margens das florestas, passando posteriormente a adaptar-se ao peridomicílio e ao intradomicílio das residências dos grandes centros urbanos, apesar do predomínio de *Ae. aegypti* nesses ambientes (DA SILVA *et al.*, 2006).

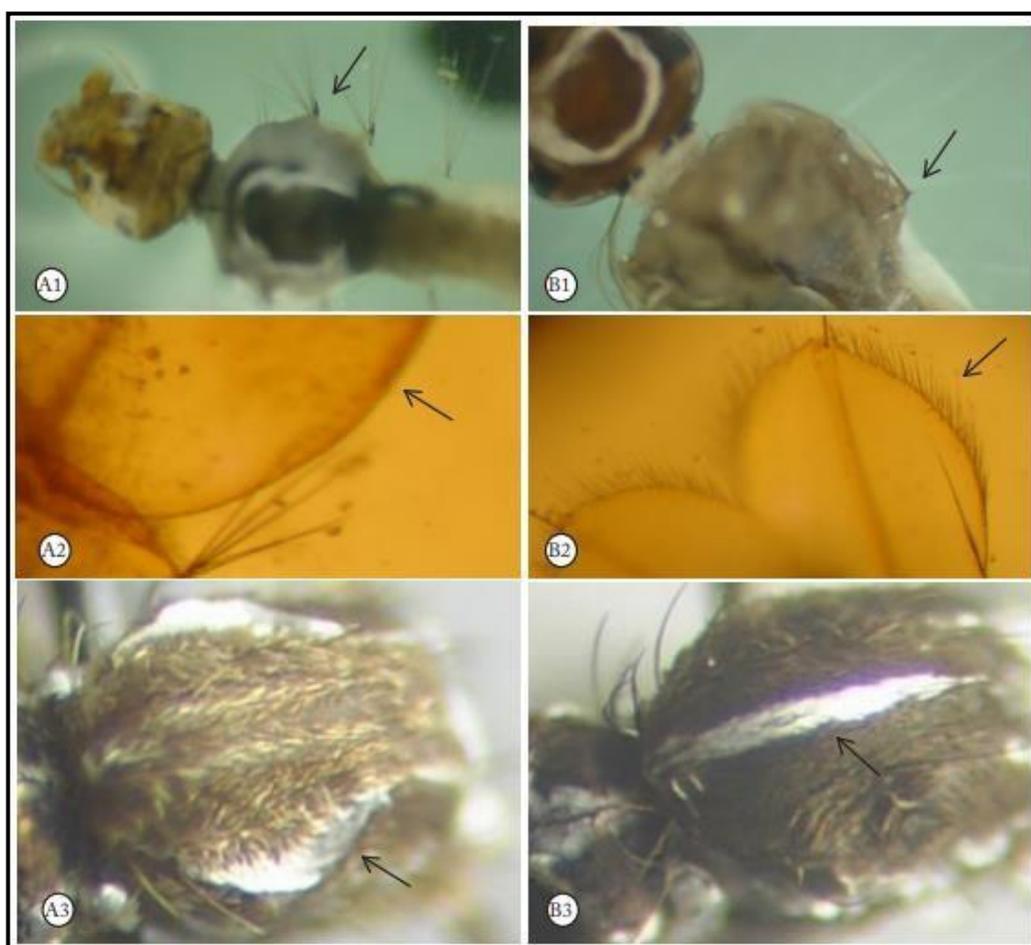
## **2.2 Introdução e expansão do *Aedes albopictus* no Brasil**

O *Aedes albopictus*, também conhecido como “tigre asiático”, é uma espécie proveniente das florestas do Sudeste Asiático descrita originalmente na Índia (GRATZ, 2004). As formas imaturas e adulta do *Ae. albopictus* são bastante similares às do *Ae. aegypti* em muitos aspectos morfológicos (Figura 1). É uma espécie bastante eclética quanto à fonte alimentar, pois realiza seu repasto sanguíneo preferencialmente em hospedeiros mamíferos, tais como bovinos, cães e humanos (SULLIVAN *et al.*, 1971), ao mesmo tempo em que as fêmeas também podem fazê-lo em répteis, aves e anfíbios (SCHOLTE; SCHAFFNER, 2007).

O comércio internacional de pneus usados tem facilitado a disseminação do *Ae. albopictus*, fazendo com que, nas últimas três décadas, tenha se expandido e se estabelecido em muitos países da América (abrangendo uma região que se estende desde os Estados Unidos à Argentina), da África Central (Nigéria, Camarões, Guiné Equatorial e Gabão), da Europa (Albânia, Bósnia-Herzegovina, Croácia, Grécia, França, Itália, Montenegro, Holanda, Sérvia, Eslovênia, Espanha e Suíça), assim como também, em ilhas dos oceanos Pacífico e Índico e no

continente australiano (RAI, 1991; KNUDSEN, 1995; GRATZ, 2004; BENEDICT *et al.*, 2007, PAUPY *et al.*, 2009).

**Figura 1.** Diferenças morfológicas de larvas, pupas e adultos de *Aedes aegypti* (A) e *Aedes albopictus* (B). **A1:** espículas laterotorácicas (bastante desenvolvidas), **B1:** espículas laterotorácicas (pouco desenvolvidas); **A2:** palhetas natatórias de pupas (ausência de cílios), **B2:** palhetas natatórias de pupas (presença de cílios); **A3:** mesonoto com escamas brancas em forma de lira, **B3:** mesonoto com escamas brancas com apenas uma faixa longitudinal presente.

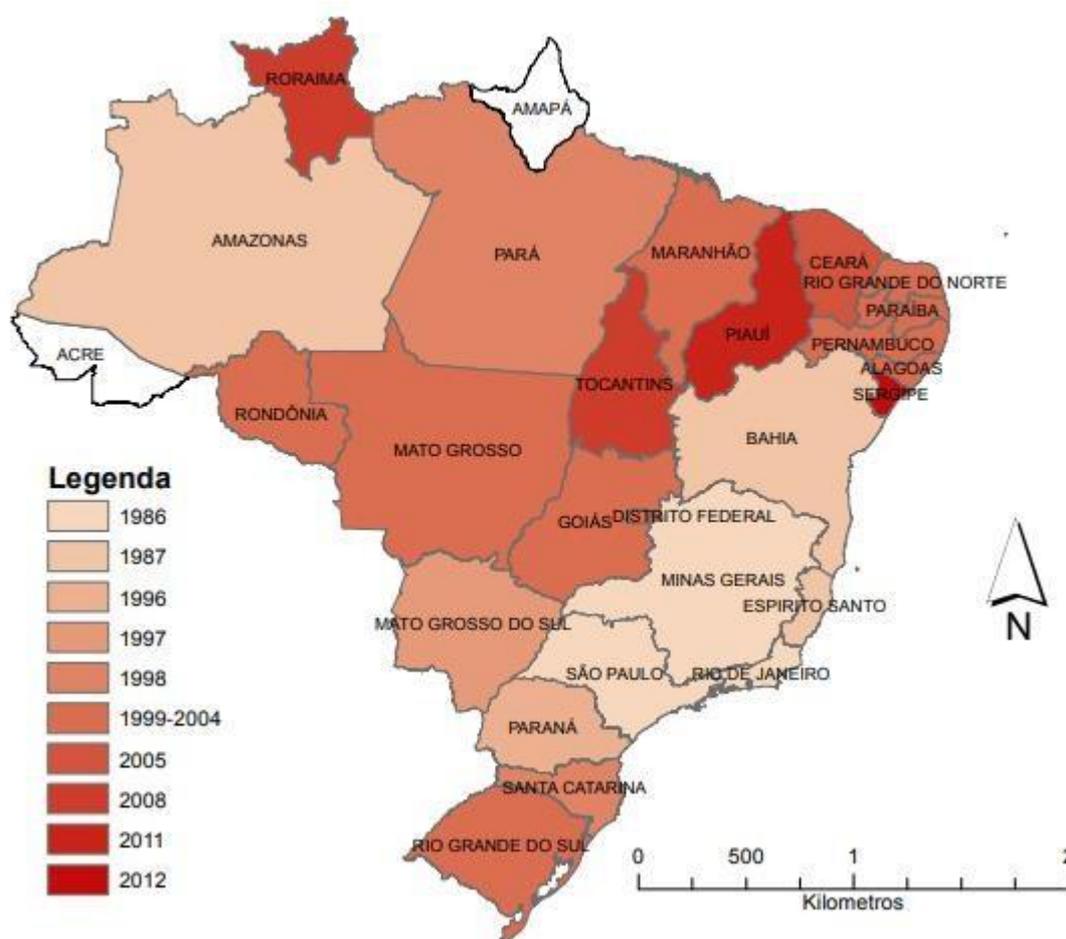


**Fonte:** Martins et al., (2013)

No Brasil, a primeira notificação da presença do *Ae. albopictus* foi registrada no Estado do Rio de Janeiro (FORATTINI, 1986). A espécie parece ter entrado no país por meio de carga de pneus usados vindo dos Estados Unidos (EUA) e despachada no porto de Vitória, no Espírito Santo (ESTRADA-FRANCO; CRAIG, 1995). Acredita-se, porém, que o mesmo possa ter entrado no país pelo mesmo porto, seria uma cepa originária do Japão, diferente da

que infestou os EUA, dispersando-se por via férrea, pelo Vale do Rio Doce. No mesmo ano, o vetor já se encontrava no Estado de São Paulo e Minas Gerais e, no ano seguinte, foi registrada sua presença no Espírito Santo (CONSOLI; LOURENÇO, 1994). Desde então, tem-se observado sua crescente e acelerada expansão, sendo atualmente apenas dois os estados brasileiros que ainda não registraram a sua presença, como Acre e Amapá (BRITO *et al.*, 1986; BORGES, 2001; BALESTRA *et al.*, 2008; AGUIAR *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2014; SANTANA *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2012) (FIGURA 2).

**Figura 2:** Distribuição do *Aedes albopictus* no Brasil (1986-2016).



**Fonte:** MARTINS *et al.*, 2013 (atualizada).

A rápida disseminação do *Ae. albopictus* deveu-se, sobretudo, ao transporte passivo de seus ovos, facilitado pelos deslocamentos de contingentes humanos e mercadorias, especialmente de pneus usados, associada à habilidade com que seus ovos têm de entrar em

diapausa, permanecendo viáveis por longos períodos em ambientes quase completamente secos e com baixas temperaturas (RAMASAMY *et al.*, 2011).

Cada vez mais tem-se observado condições de instalação e permanência desse vetor em ambiente urbano. Essa adaptação a ambientes domiciliares (peridomicílio e/ou intradomicílio), tem elevado os riscos de transmissão de doenças pelo mosquito às populações humanas, isso tendo em vista a susceptibilidade comprovada em infectar-se e transmitir, sob condições laboratoriais, a diferentes tipos de vírus (DIENG *et al.*, 2010).

Embora o *Ae. albopictus* seja considerado um vetor secundário na transmissão da dengue em episódios epidêmicos no sudeste da Ásia, no oeste do Pacífico e nas Américas Central e do Sul, comparado ao mosquito *Aedes aegypti* (LAMBRECHTS *et al.*, 2010), mas em Bangladesh e no Havaí, esse mosquito é incriminado como o único vetor em epidemias de dengue nessas regiões (EFFLER *et al.*, 2002). Também, tem-se observado sua participação na transmissão dos 4 sorotipos do dengue em epidemias ocorridas no Japão e em Taiwan, durante a segunda grande guerra (HOTTA, 1998), nas ilhas Seychelles e La Réunion (1977) (PAUPY *et al.*, 2001), na China (1978) (QIU *et al.*, 1993) e em Macao e no Havaí (2001) (ALMEIDA *et al.*, 2005; EFFLER *et al.*, 2002), bem como sua reconhecida atuação como vetor do vírus Chikungunya em epidemias ocorridas na África Central (2007) e na Itália (2008) (PAGES *et al.*, 2009; BONILAURI *et al.*, 2008).

No Brasil, em virtude dos escassos relatos de pesquisas conduzidas em campo direcionadas ao *Ae. albopictus*, é possível que sua participação como vetor do vírus dengue tenha sido negligenciada (MARTINS *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, estudos sobre a susceptibilidade de mosquitos ao vírus da dengue foram realizados com o emprego de diversas populações de *Ae. albopictus*, tanto nas Américas, quanto em outras regiões do mundo. Isso tem revelado a capacidade e habilidade que este vetor tem em transitar em diferentes áreas (rurais, suburbanas e urbanas), fazendo deste Culicidae uma ponte entre patógenos silvestres e urbanos (SIMARD *et al.*, 2005; WEAVER; REISEN, 2010; GUEDES, 2012; LUZ *et al.*, 2015; CASTRO *et al.*, 2016). De fato, recentemente tem sido sugerido que *Aedes albopictus* pode contribuir para o estabelecimento de uma conexão entre os ciclos silvestre e urbano do vírus do Oeste do Nilo, nos Estados Unidos (TURRELL *et al.*, 2001), e do vírus da Febre Amarela no Brasil (GOMES *et al.*, 2008).

A transmissão de vírus se faz pela picada dos mosquitos, no ciclo ser humano-*Aedes albopictus*-ser humano. Após um repasto de sangue infectado, o mosquito está apto a transmitir o vírus depois de 8 a 12 dias de incubação extrínseca. A transmissão mecânica também é possível, quando o repasto é interrompido e o mosquito, imediatamente, se alimenta num

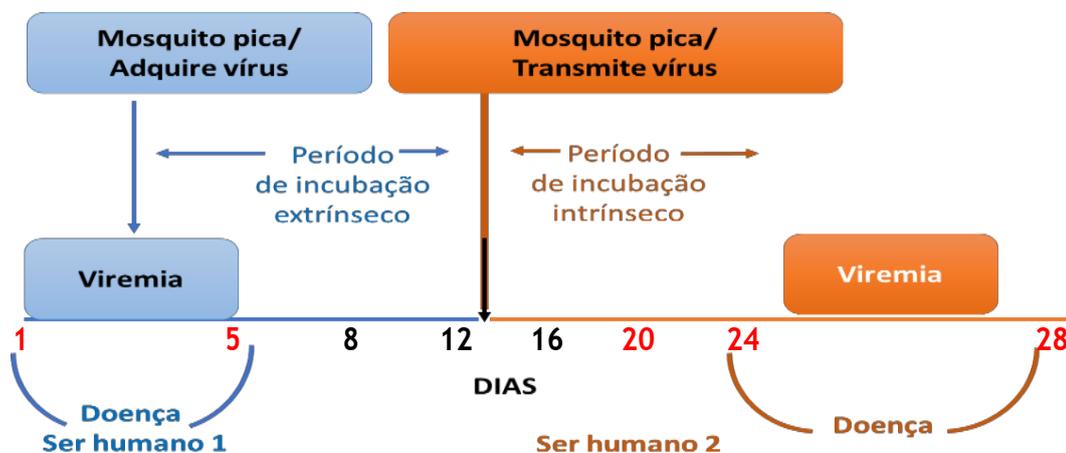
hospedeiro susceptível próximo. Não há transmissão por contato direto de um doente ou de suas secreções com pessoa sadia, nem por intermédio de água ou alimento (HIGGS; BEATY, 2004; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; CLEMENTS, 2012).

Entretanto, para os ciclos de infecção em culicídeos vetores, foram descritos dois tipos de transmissão: a vertical e a horizontal (HIGGS; BEATY, 2004). Na transmissão vertical, ocorre quando o patógeno é passado da fêmea infectada para sua prole, podendo ser de dois tipos: transovariana (vírus dentro do ovo) ou transovo (vírus na superfície do ovo) (HIGGS; BEATY, 2004; LAMBRECHTS; SCOTT, 2010; FLORES *et al.*, 2010).

A ocorrência de transmissão vertical natural do vírus dengue em populações de *Ae. albopictus* no Brasil tem sido relatado por Figueiredo *et al.* (2010) a partir de larvas coletadas na cidade de Santos (SP). Guedes *et al.* (2012), relataram a transmissão vertical em adultos de *Ae. aegypti* na cidade de Recife (PE), assim como também, Vilela *et al.* (2010) relataram esse tipo de transmissão em ovos de *Ae. aegypti* coletados em Belo Horizonte (MG). Mais recentemente, Martins *et al.* (2012), em estudo realizado na cidade de Fortaleza (CE), isolaram os sorotipos 2 e 3 provenientes de larvas e pupas de fêmeas de *Ae. albopictus* coletadas em áreas urbanas da cidade, incluindo um parque ecológico com extensa cobertura vegetal. Tal registro chama a atenção para os riscos de transmissão de dengue por *Ae. albopictus*, devido às condições favoráveis que esses parques oferecem para a sua instalação e manutenção, pois representam um excelente ponto de contato entre os humanos que por ali transitam e espécimes deste culicídeo, que se aproveitam da ocasião para realizarem o seu repasto sanguíneo (MARTINS *et al.*, 2013).

O ciclo de transmissão de vírus pelo *Ae. albopictus* compreende dois períodos. No primeiro, o período compreendido entre a ingestão de um sangue contaminado com patógenos até a capacidade de transmissão para outro hospedeiro a partir de uma nova alimentação sanguínea é conhecido por período de incubação extrínseco (PIE), e no segundo, é chamado de período de incubação intrínseco (PII), quando ocorre no organismo do hospedeiro vertebrado (BORGES, 2001; GUEDES, 2012).

**Figura 3:** Esquema representativo do ciclo de transmissão biológica.



Fonte: próprio autor, 2018.

### 2.3 Estratégias utilizadas para o controle de insetos vetores de patógenos.

Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE), em parceria com a população, são responsáveis por promover o controle mecânico e químico do vetor, cujas ações são centradas em detectar, destruir ou destinar adequadamente reservatórios naturais ou artificiais de água que possam servir de depósito para os ovos do *Aedes* (ZARA *et al.*, 2016).

Neste sentido, diversas estratégias têm sido desenvolvidas para o controle desses insetos utilizando métodos de controles mecânicos, biológicos e químicos. Como estratégia de controle mecânico, a sociedade tem papel importante na eliminação de insetos vetores. Neste sentido, a abordagem eco-bio-social configura como sendo uma alternativa e se destaca pela aplicação de conceitos e práticas relacionados à educação social e ao cuidado com o meio ambiente como aliados do controle do mosquito. Essa abordagem possui três elementos principais: (i) transdisciplinaridade: implica uma visão inclusiva dos problemas de saúde relacionados com o ecossistema; (ii) participação dos interessados: envolve diversos parceiros, inclusive a comunidade local; e (iii) equidade: compreende a participação equânime de homens e mulheres e diferentes grupos sociais no envolvimento com as ações de combate ao *Aedes*. Essas estratégias estão centradas na eliminação dos reservatórios de água, na colocação de tampas nos recipientes mais propícios para a proliferação dos mosquitos e na instalação de telas sobre as janelas e portas (WHO, 2013; LIMA *et al.*, 2015; ZARA *et al.*, 2016).

Controlar os mosquitos mapeando as áreas de riscos torna-se uma estratégia alternativa e promissora, desenvolvida para avaliar e identificar áreas com elevado índice de infestação do mosquito. Com isso, o uso da estatística espacial local, tornaria uma ferramenta importante ao relacionar os dados adquiridos da vigilância entomológica, da vigilância epidemiológica, da rede laboratorial e de saneamento, para trabalhar as ações de controle nas áreas prioritárias (VAZQUEZ-PROKOPEC *et al.*, 2010; LACON *et al.*, 2014).

As estratégias adotadas como controle biológico, as bactérias *Wolbachia* entomopatogênicas, intracelular, inofensivas ao homem e a animais domésticos, estão sendo utilizadas para o controle de espécies vetores. Essa bactéria é capaz de reduzir pela metade o tempo de vida de um mosquito adulto e produzir incompatibilidade citoplasmática completa, resultando em uma progênie estéril (MCMENIMAN *et al.*, 2009; YEAP *et al.*, 2011). Espera-se, com isso, que a cadeia de transmissão do vírus seja interrompida quando a população de mosquitos estiver infectada (WALKER *et al.*, 2011; SINKINS; BULL *et al.*, 2013).

As bactérias das espécies *Bacillus sphaericus* (Bs) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) também têm sido utilizadas como formas de controle biológico de insetos. Essas bactérias têm como características fisiológicas a liberação de cristais proteicos (pró-toxinas), que ao serem ingeridos pelas larvas de culicídeos, os cristais serão clivados pelas proteases digestivas, que irão clivar as pró-toxinas presentes nos cristais e assim ativarão o sistema inseticida (POLANCZYK *et al.* 2003; BRAGA; VALLE, 2007a). Apesar de o Bti ser eficaz na redução do número de *Aedes* imaturos nos recipientes tratados em curto prazo, não há evidências de que esse método isolado possa impactar na redução da morbidade da dengue em longo prazo (ZARA *et al.*, 2016).

Uma outra alternativa consiste em direcionar as ações de controle para as formas imaturas do culicídeos vetores através da utilização de predadores aquáticos, como peixes larvófagos das espécies *Betta splendens*, *Gambusia affinis* e *Poecilia spp*, assim como também, larvas predadoras do gênero *Toxorhynchites*, e crustáceos d'água doce dos gêneros *Macrocylops* e *Mesocyclops* (TEIXEIRA *et al.*, 1999; DONALÍSIO; GLASSER, 2002; CAVALCANTI *et al.*, 2007; FERNÁNDEZ *et al.*, 2011).

Com os avanços biotecnológicos, as estratégias genéticas também estão sendo desenvolvidas para o controle de vetores (MASSONNET-BRUNEE *et al.*, 2013; YAKOB *et al.*, 2008), e geralmente são divididas em duas etapas. A primeira etapa consiste em reduzir ou mesmo eliminar espécies de mosquitos por meio do desenvolvimento de genes letais ou capazes de tornar os insetos estéreis. A segunda etapa envolve a transformação ou substituição da população, pela introdução de um gene efetor para reduzir ou bloquear a transmissão da doença

na população selvagem (CARVALHO et al., 2014) No caso de mosquitos, para a criação em massa e liberação no meio ambiente, é essencial o uso de tecnologias de sexagem, porque apenas os machos podem ser liberados, uma vez que não se alimentam de sangue, como as fêmeas, reduzindo-se o risco de picadas e a transmissão de doenças (HARRIS et al., 2012; ARAÚJO et al., 2015; WISE DE VALDEZ et al., 2011).

### 2.3.1 Controle químico

Por muitos anos, diferentes estratégias foram adotadas para o controle de insetos. No entanto, por se tratarem de estratégias com baixa efetividade, sobretudo por não garantirem resultados significativos de longo prazo, o desenvolvimento de inseticidas químicos sintéticos tornou-se um dos grandes avanços no controle de insetos em meio ao século XX. Atualmente, os principais inseticidas utilizados nos programas de controle de vetores estão agrupados em quatro grandes classes: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides. (FUNASA, 2001; BALDACCHINO *et al.*, 2015).

Na classe dos inseticidas químicos sintéticos, os organoclorados são os compostos mais persistentes dentre todas as classes, pois apresentava efeito prolongado e propriedade residual. Os organoclorados mais utilizados foram o DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), Clordano, Aldrin, BHC (Benzeno Hexachloride) e Dieldrin. Desses, o primeiro inseticida a ser utilizado foi o DDT, desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial, que, quando aplicado em paredes e tetos de casas, permanecia ativo contra os insetos por vários meses (BRAGA; VALLE, 2007b).

Um dos maiores problemas na utilização do DDT, é a alta taxa de toxicidade e o grande impacto que o composto causa por persistirem ao meio ambiente, fato esse, que causou um verdadeiro impacto negativo (VENIER; HITES, 2014). Com o passar dos anos, observaram que os organoclorados não apresentavam mais eficácia, sendo substituído pelos inseticidas organofosforados (OPs) e piretróides, compostos bastante seletivos às pragas da agricultura. No Brasil, o organofosforados temefós foi o larvicida exclusivo do país. (BRAGA; VALLE, 2007a; GARCEZ *et al.* 2013; GOMES *et al.* 2016).

Os organofosforados são amplamente utilizados em Saúde Pública por apresentarem muitas vantagens, como serem biodegradáveis e não se acumularem nos tecidos. Apresentam, porém, como principal desvantagem, a instabilidade química, o que torna obrigatória a renovação periódica de sua aplicação. Além disso, são mais tóxicos para os

vertebrados que os organoclorados, mesmo em doses relativamente baixas (WARE; WHITACRE, 2004).

Os piretroides são substâncias bastante estáveis, sintetizados a partir de uma substância natural, o piretro, extraído de crisântemos, plantas pertencentes ao gênero *Chrysanthemum*, particularmente, *Chrysanthemum cinerariaefolium* (WARE; WHITACRE, 2004). Estão entre os compostos mais seguros ao meio ambiente (WHO, 1984). Esse composto apresentou uma evolução interessante, a qual, foi dividido em quatro gerações, tendo a última geração altamente efetiva em doses baixas. Alguns representantes dessa geração incluem-se a permetrina, cipermetrina e a deltametrina, todos estes inseticidas são estáveis a luz solar (WHO, 1997; BRAGA; VALLE, 2007a).

Os carbamatos, derivados do ácido carbâmico, têm sido amplamente utilizados nos programas de controle da malária, particularmente em áreas onde a resistência aos OPs é verificada. Entre os mais utilizados, está o Carbaril, (USEPA, 2004; BRAGA; VALLE, 2007b). Apresentam uma grande desvantagem por serem reversíveis e terem ação letal rápida, raramente excedendo mais de uma hora, apesar de um curto poder residual (BRAGA; VALLE, 2007b).

Hoje, algumas ações são implementadas visando à erradicação dos agentes patogênicos, ou dos seus vetores, se dão através de controle químico com a utilização de substâncias análogas de hormônio juvenil, inibidores de síntese de quitina e substâncias com ação neurotóxicas (GURGEL, 2005; LONDRES, 2011; ZARA et al., 2016).

A utilização de substâncias químicas como estratégia para o controle de vetores muitas vezes é difícil de ser executada, pois tem apresentado alguns problemas relacionados à infraestrutura das cidades, dentre elas, a baixa cobertura na coleta de lixo e a intermitência no abastecimento de água, comprometendo a efetividade no controle de muitos insetos vetores (COELHO, 2008; OLIVEIRA et al. 2015; ZARA et al., 2016). Mesmo assim, várias estratégias de controle químico têm sido empregadas com a finalidade de erradicar insetos transmissores de doenças. Dentre elas, micropartículas do inseticida piriproxifeno têm sido utilizadas para atrair fêmeas para pequenos depósitos tratados com esse composto, com a finalidade de disseminar o pó desse larvicida em pequenos reservatórios, (DEVINE et al., 2009; ABAD-FRANCH et al., 2015).

Substâncias químicas que pudessem atuar no crescimento e na reprodução dos mosquitos, também têm sido uma das estratégias importantes para o controle desses vetores. Daí, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem recomendado, os inseticidas reguladores do crescimento de insetos (IGRs - Insetos Growth Regulators), pertencentes ao grupo das benzoil-

fenil-uréias (BPU, inibidores de síntese de quitina), como os diflubenzuron e o triflumuron, ambos larvicidas, que agem interferindo ou bloqueando a ação da Quitina-Sintase, enzima chave na polimerização da quitina –polissacarídeo importante encontrado no exoesqueleto de insetos (VIEIRA, 2003). Alguns estudos apontam que a utilização conjunta de toxinas bacterianas das espécies *Bacillus sphaericus* (Bs) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) com inibidores de síntese de quitina (BPU) tem mostrado grande eficiência contra diferentes vetores da dengue, embora, o efeito residual seja um dos pontos mais negativos por apresentarem níveis baixos. (BRAGA; VALLE, 2007a; FARNESI, 2009; FERNÁNDEZ et al., 2011; GARCEZ et al., 2013; CABRAL, 2015).

Qualquer que seja o composto químico ou a sua forma de utilização, pode-se caracterizar uma condição de risco de exposição múltipla à população como um todo (TEIXEIRA *et al.*, 2003; BRAGA; VALLE, 2007a), isso porque, quando aplicados, apresentam alta persistência no meio ambiente, em tecidos de animais e humanos, causando sérios problemas de saúde.

### **2.3.2 Produtos Naturais como alternativas ao controle de insetos vetores de patógenos.**

Os vegetais estão entre os seres vivos que produzem uma quantidade imensurável de compostos bioativos com estruturas químicas complexas que não apresentam funções bem definidas para os organismos produtores, uma vez que não cumprem um determinado papel no metabolismo, no crescimento e na divisão celular (SIMÕES *et al.*, 2017).

Os diferentes compostos produzidos pelos vegetais são divididos em dois grandes grupos: os metabólitos primários e os metabólitos secundários, estes últimos são resultantes de uma interface química entre as plantas e o meio ambiente, que, ao longo de seu ciclo evolutivo, desenvolveram mecanismos de adaptação para competir com outras plantas, assegurando sua sobrevivência contra ataques de inimigos naturais (SOUZA FILHO; ALVES, 2002; VIZZOTTO *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2017). Todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar metabólitos secundários (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

Os produtos naturais como óleos essenciais e extratos vegetais têm ganhado notável importância para a prospecção de substâncias bioativas. Os óleos essenciais ou óleos voláteis são compostos de natureza química complexa, caracterizados por um forte odor, sendo sintetizados por plantas aromáticas durante o metabolismo secundário, e normalmente extraídos

por meio de destilação por arraste com vapor d'água, bem como por prensagem dos pericarpos de frutos cítricos (MACHADO; JUNIOR, 2011; SIMÕES *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais apresentam diferentes propriedades biológicas, como a ação larvívica (RAJKUMAR *et al.*, 2010), atividade antioxidante (WANNES *et al.*, 2010), ação analgésica e anti-inflamatória (MENDES *et al.*, 2010), fungívica (CARMO *et al.*, 2008) e atividade antitumoral (SILVA, 2008).

Os extratos vegetais compreendem moderadamente um conceito amplo de produtos naturais, podendo ser líquidos, moles, espessos ou secos. Apesar da ampla gama de substâncias líquidas conhecidas como extratores, são poucas as utilizadas na extração de produtos naturais de origem vegetal, sendo essa limitação decorrida das propriedades extrativas, adequação tecnológica e inocuidade fisiológica. Os líquidos extratores mais utilizados são os hidrocarbonetos alifáticos (éter de petróleo e n-hexano), hidrocarbonetos halogenados (clorofórmio e diclorometano), álcoois (etanol e metanol), cetonas (acetona e metiletilacetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e água (SIMÕES *et al.*, 2017).

Os extratos são amplamente utilizados por apresentarem uma grande diversidade química, cuja utilização na medicina popular é voltada para o controle de diferentes sintomatologias, como febre, vômito, dores na cabeça, constipação, diarreia, afta, inflamação intestinal, hemorragia, entre outras patologias (BARBOSA *et al.*, 2007; SILVA, 2012). Entretanto, o uso desses compostos não se restringe apenas ao controle de doenças, já que vêm sendo amplamente difundidos na indústria farmacêutica para a produção de fitofármacos e fitoterápicos (SILVEIRA *et al.*, 2008; ROSA *et al.*, 2016).

As substâncias de origem vegetal têm ganhado destaque nas pesquisas científicas como importantes formas alternativas ao controle de populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Desta forma, os assim chamados bioinseticidas vêm a suprir as necessidades de compostos naturais capazes de eliminar populações de *Aedes* spp. que porventura desenvolveram resistência aos inseticidas químicos sintéticos, frente às suas características de apresentar propriedades ovicidas, larvívicas, pupicidas, adulticidas e repelentes sobre as espécies de culicídeos. (FERNÁNDEZ *et al.*, 2011; LOUISE, 2014; ANHOLETI *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016). A tabela 1 elenca algumas espécies vegetais cujos produtos, extratos e óleos essenciais, obtidos de distintas partes dos vegetais, foram testados quanto ao potencial efeito larvívico sobre *Ae. albopictus*.

**Tabela 1.** Extratos e óleos essenciais obtidos de distintas partes vegetais e seu efeito larvicida sobre *Aedes albopictus*, 2000 a 2016.

Família/Espécie	Estrutura vegetal	Produto obtido	CL <sub>50</sub> (ppm)	Referência
<b>AMARYLLIDACEAE</b>				
<i>Allium macrostemon</i>	Caule	Óleo essencial	72,8	Liu et al., 2014
<b>ANACARDIACEAE</b>				
<i>Melanochyla fasciculiflora</i>			474,7 – 727,6	
<i>Gluta rengas</i>	Folha e	Extrato metanólico	240,1 – 589,6	Yousaf & Zuharah, 2015
<i>Anacardium occidentale</i>	Caule		638,4 – 791,1	
<i>Mangifera indica</i>			431,1 – 722,2	
<b>APIACEAE</b>				
<i>Coriandrum sativum</i>	Fruto	Óleo essencial	421	Benelli et al., 2013
<b>ASTERACEAE</b>				
<i>Achillea millefolium</i>	Folha	Óleo essencial	211,3	Conti et al., 2010
<i>Helichrysum italicum</i>			178,1	
<b>CANNABACEAE</b>				
<i>Cannabis sativa</i>	Folha	Óleo essencial	0,3	Bedini et al., 2016
<i>Humulus lupulus</i>			0,3	
<b>CONVOLVULACEAE</b>				
	Folha,			
<i>Ipomoea cairica</i>	Flor e Raízes	Extrato metanólico	21,7 – 37,6	Ishak et al., 2014
<b>COSTACEAE</b>				
<i>Saussurea lappa</i>	Raiz	Óleo essencial	12,4	Liu et al., 2012
<b>CUPRESSACEAE</b>				
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>			47,9	
<i>Cupressus arizonica glabra</i>	Folha	Óleo essencial	64,8	Giatropoulos et al., 2013
<i>Cupressus benthamii</i>			37,5	
<i>Cupressus macrocarpa</i>			54,6	

<i>Cupressus sempervirens</i>			54,7	
<i>Cupressus torulosa</i>			57,1	
<i>Juniperus phoenicea</i>			55,5	
<i>Tetraclinis articulata</i>			70,6	

#### EUPHORBIACEAE

<i>Ricinus communis</i>	Semente	Extrato de acetona	11,6	Mandal, 2010
-------------------------	---------	--------------------	------	--------------

#### FABACEAE

<i>Tephrosia vogelii</i>	Folha	Extrato aquoso	1,1	Li et al., 2015
--------------------------	-------	----------------	-----	-----------------

#### LAMIACEAE

<i>Coleus aromaticus</i>			67,9	Govindarajan et al., 2013 <sup>a</sup>
<i>Hyptis suaveolens</i>			240,3	Conti et al., 2012
<i>Lavandula angustifolia</i>			>250	Conti et al., 2010
<i>Ocimum basilicum.</i>			11,9	Govindarajan et al., 2013b
<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha	Óleo essencial	26,1	Sumitha & Thoppil, 2016
<i>Rosmarinus officinalis</i>			> 250	Conti et al., 2010
<i>Salvia dorisiana</i>			76,7	
<i>Salvia elegans</i>			46,4	
<i>Salvia splendens</i> Blue Ribbon			59,2	Mathew & Thoppil, 2011
<i>Salvia splendens</i> Scarlet Sage			92,7	

#### LAURACEAE

<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Folha	Óleo essencial	40,8	Cheng et al., 2009
-------------------------------	-------	----------------	------	--------------------

#### MALVACEAE

		Extrato hexânico	261,3	
		Extrato de éter dietílico	1442,3	
<i>Abutilon indicum</i>	Folha	Extrato de diclorometano	1434,5	Tennyson et al., 2012
		Extrato acetato etílico	898,8	

<i>Sida acuta</i>		Extrato metanólico	42,0	Govindarajan, 2010
<b>MYRTACEAE</b>				
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Folha		31,0 – 55,3	Cheng et al., 2009
	Semente	Óleo essencial	26,7	Lucia et al., 2008
<i>Myrtus communis</i>	Folha		50	Dias & Moraes, 2014
			> 250	Conti et al., 2010
<i>Syzygium guineense</i>	Raiz	Extrato etanólico	66,8	Francine et al., 2016
<b>PINACEAE</b>				
<i>Pinus brutia</i>			67	
<i>Pinus canariensis</i>			>200	
<i>Pinus halepensis</i>			70,2	
<i>Pinus nigra</i>	Caule	Óleo essencial	152,6	Koutsaviti et al., 2015
<i>Pinus pinaster</i>			>200	
<i>Pinus stankewiczii</i>			81,6	
<i>Pinus strobus</i>			127,9	
<b>RUTACEAE</b>				
<i>Citrus limon</i>			95,8	Furtado et al., 2005
			25,0	
<i>Citrus paradisi</i>	Fruto	Óleo essencial	37,03	Giatriopoulos et al., 2012
			28,6	
<i>Citrus sinensis</i>	Folha	Extrato hexânico	446,4	Warikoo et al., 2012
<i>Monodora myristica</i>		Extrato etanólico	110,9	Francine et al., 2016
<i>Ruta chalepensis</i>	Fruto		35,6	Conti et al., 2013
<i>Toddalia asiatica</i>		Óleo essencial	69,0	Liu et al., 2013
	Raiz		229	
<i>Zanthoxylum heitzii</i>	Folha	Extrato etanólico	288	Francine et al., 2016
	Fruto		47,9	

Fonte: Viana et al., 2018.

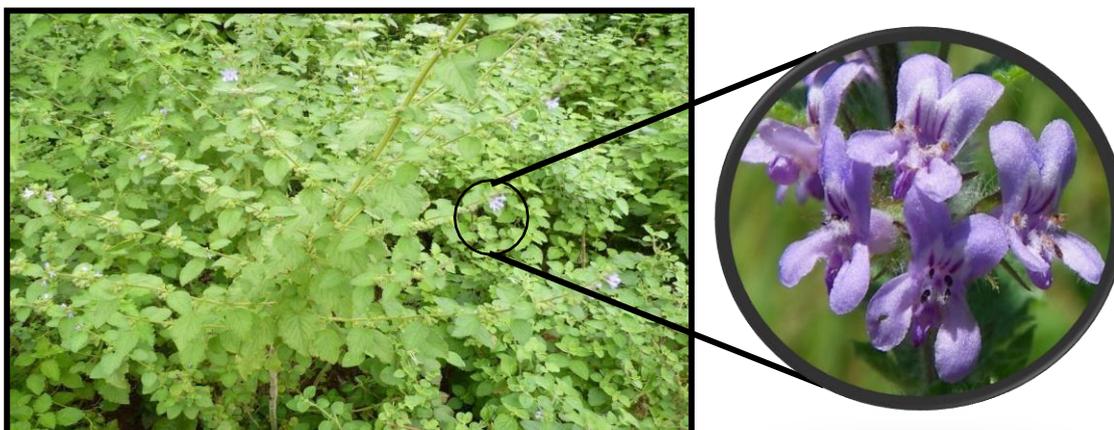
## 2.4 *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

A *Hyptis suaveolens* (L.) Poit é uma espécie vegetal pertencente à família Lamiaceae. Essa família reúne cerca de 250 gêneros e 6.970 espécies (JUDD et al., 1999), com grande distribuição mundial, com destaque especial para região mediterrânea (BORDIGNON, 1990).

Dentre os gêneros existentes o *Hyptis* Jacq. reúne aproximadamente 400 espécies, de ocorrência principalmente nas Américas, distribuídas desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (BORDIGNON, 1990; PEERZADA, 1997; MISHRA et al., 2011). É comum encontrar espécies do gênero *Hyptis* no Cerrado brasileiro cujos representantes exibem uma grande diversidade morfológica (AZEVEDO et al., 2002; SOUZA et al., 2002), variando desde ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores pequenas. Os caules geralmente são quadrangulares, as folhas opostas, simples ou mais raramente partidas, pecioladas ou sésseis, ou curtamente pedunculadas, contendo substâncias aromáticas (BORDIGNON, 1990).

Dentre as espécies do gênero *Hyptis* destaca-se a *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Figura 4), uma planta semilenhosa, com poucos ramos laterais, caule quadrangular e filotaxia oposta (ZAIDAN et al., 1991). A espécie é considerada uma planta invasora de lavouras de milho e pastagens, sendo encontrada em uma variedade de habitats, como trilhos, estradas, montes de florestas abertas e clareiras florestais, podendo infestar fortemente terras, particularmente em substratos áridos e rochosos (AZEVEDO et al., 2001; SILVA et al., 2003; CHUKWUJEKWU et al., 2005; MISHRA, 2011; RODRIGUES et al., 2012). Caracterizada como uma erva que se apresenta ereta durante todo o ano, fisiologicamente apresenta crescimento rápido, com altura oscilando entre um a dois metros na fenofase de frutificação (SILVA et al., 2003). É um vegetal que tem preferência por solos alcalinos, arenosos e áreas rochosas (SHARMA; RAIZADA; RAGHUBANSHI, 2009).

**Figura 4.** Características morfológicas de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.



**Fonte:** [publish.plantnet-project.org](http://publish.plantnet-project.org). acessado em 03 de dezembro de 2018.

A *H. suaveolens* apresenta um cheiro mentolado utilizado como repelente de mosquitos em muitas regiões da África, onde é chamada de hortelã de arbusto, sendo queimada dentro das casas (ABAGLI *et al.*, 2012). Essa espécie também pode ser encontrada na América, na Ásia tropical, México e sul do Caribe até o Brasil e Bolívia (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2002). No Brasil, ela é conhecida popularmente como “bamburral” (nordeste) e “erva-canudo” (sudeste e sul) (AGRA *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2012).

A composição química de *H. suaveolens* tem sido alvo de diversos estudos, onde têm mostrado que o óleo essencial apresenta uma grande diversidade química, constituído principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e ácidos graxos, sendo estes constituintes sintetizados e armazenados em tricomas glandulares da planta (MCNEIL *et al.*, 2011; CONTI *et al.*, 2011; SYAMASUNDAR *et al.*, 2012).

Os teores de óleo essencial também variam conforme o local de colheita da planta, como 0,035% (Viçosa, Brasil); 0,09% a 0,41% (diversas localidades da Índia) e 1,5% (Nigéria) (MARTINS *et al.*, 2006; SYAMASUNDAR *et al.*, 2012). Tais variações podem ocorrer como respostas à variabilidade genética intraespecífica, condições ambientais, época de colheita, condições de cultivo, tipo de solo e parte da planta utilizada (HAY; SVOBODA, 1993). Outro fator que também influencia na composição química do óleo essencial é a latitude. A exemplo disso são os sesquiterpenos, são produzidos principalmente, em latitudes mais baixas, enquanto que os monoterpenos latitudes mais altas (AZEVEDO *et al.*, 2002).

A complexidade química do óleo essencial de *H. suaveolens* também é um dos aspectos que deve ser considerado. Segundo Martins *et al.* (2006), foram identificadas a presença de 65 constituintes químicos, sendo os sesquiterpenos oxigenados a classe de terpenos

mais representativa. Por outro lado, Conti *et al.* (2011) relataram a presença de 56 constituintes químicos, sendo 64,1% de monoterpenos, 24,0% de sesquiterpenos, 8,1% de monoterpenos oxigenados, 2,4% de sesquiterpenos oxigenados e escasso teor de diterpenos e derivados não terpênicos, 0,3 e 0,2%, respectivamente.

Na medicina popular, o bamburral tem apresentado diferentes propriedades biológicas, o qual vem sendo indicado para o tratamento de cólicas menstruais, problemas digestivos, odontalgias, tratamento de cefaleia, gota, antisséptico, assim como também, para algumas infecções respiratórias como gripes, resfriado, febres e doenças de pele (CHUKWUJEKWU *et al.*, 2005; BASÍLIO *et al.*, 2006).

Estudos têm comprovado a eficácia do bamburral quanto à sua atividade antioxidante (TAFURT-GARCÍA *et al.*, 2015), anti-inflamatória (GRASSI *et al.*, 2005), antimalária (CHUKWUJEKWU *et al.*, 2005), antidiarreica, antiparasitária, anticancerígena e cicatrizante (NGOZI *et al.*, 2014), antidiabética (MISHRA *et al.*, 2011), antinociceptiva (SANTOS *et al.*, 2007), gastroprotetora (VERA-ARZAVE *et al.*, 2012), hepatoprotetora e citoprotetora (GHAFARI; GHASSAM; PRAKASH, 2012).

Outras propriedades biológicas apresentadas pelo bamburral foi atividade antibacteriana contra diferentes espécies de bactérias Gram-positivas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hemolyticus* e *Staphylococcus albus*) e bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus vulgaris*) (JOY *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2010; RÍOS TESCH *et al.*, 2015). Ademais, o óleo essencial das folhas de *H. suaveolens* também tem demonstrado atividade antifúngica frente a espécies de *Candida albicans* e espécies do gênero *Aspergillus* (ASEKUN *et al.*, 1999; JAYA; DUBEY, 2011).

Moreira *et al.* (2010) e Jaya & Dubey, (2011), utilizando o óleo essencial das folhas do bamburral, demonstraram sua eficácia no combate a infecções causadas pelos fungos *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*, espécies consideradas de grande importância médica, uma vez que são responsáveis pela colonização das vias do trato respiratório, ocasionando alergias.

Ademais, o óleo essencial do bamburral também tem demonstrado toxicidade por contato e ação repelente contra alguns artrópodes tais como *Sitophilus granarius* (L.) (Dryophthoridae), *Callosobruchus maculatus* (Bruchidae), *Rhyzopertha dominica* (Bostrychidae), *Sitophilus oryzae* (Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae), espécies que atacam grãos de trigo armazenados no mundo (TRIPATHI; UPADHYAY, 2009; SOARES *et al.*, 2010).

## 2.5 *Ipomoea cairica* (L.) Sweet

A *Ipomoea cairica* (L.) Sweet (Figura 5) é uma planta da família Convolvulaceae, uma espécie trepadeira, herbácea, muito florífera e perene, que cresce em regiões tropicais e subtropicais no mundo, com grande capacidade competitiva e adaptativa, capaz de se reproduzir por sementes e vegetativamente. Devem ser cultivadas a pleno sol, em solos drenáveis, com regas regulares. Não exige fertilidade, crescendo mesmo em solos pobres. É rústica e apresenta rápido crescimento, sendo frequente sua utilização como trepadeira anual. Apesar de não tolerar o frio intenso, pode ser conduzida em clima temperado durante a primavera e o verão (FERREIRA *et al.*, 2006; SAMUEL *et al.*, 2014; PATROL, 2018).

**Figura 5** – Característica morfológicas morfológica de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet.



**Fonte:** <https://www.upf.br/muzar/noticia/ipomoea--flor-simbolo-de-passo-fundo>. Acessada em 03 de dezembro de 2018.

Essa espécie está distribuída principalmente nos países da América do Sul e da América Central e em territórios tropicais africanos (AUSTIN; HUAMAN, 1996). Nativa do Brasil, a espécie é geralmente encontrada em pastos originalmente vegetativos. Dependendo da região, a planta é conhecida popularmente como ipoméia, jitirana, jetirana, corriola, campainha ou corda-de-violeta (PROCÓPIO *et al.*, 2003).

Segundo Thomas *et al.*, (2004), a infusão de folhas da *I. cairica*, tem sido utilizada para o tratamento de erupções cutâneas, especialmente aquelas acompanhadas por febre. Além disso, os remédios preparados a partir de raízes da *I. cairica* também têm sido bastante

utilizados para o tratamento da hepatite A, como antidiarreico e antissifilítico (PIO CORREIA, 1978; ALONSO, 1988; FERREIRA *et al.*, 2006a). Partes aéreas da *I. cairica* têm sido utilizadas na medicina popular para tratamentos inflamatórios e reumáticos (FRANCO; FONTANA, 1997).

A prospecção dos constituintes químicos da *I. cairica* tem levado ao isolamento de alguns constituintes como arctina, arctigenina, trachelogenin, matairesinol, umbeliferona,  $\beta$ -sitosterol, escopoletina e ácidos graxos (NISHIBE *et al.*, 1993; LIMA; BRAZ-FILHO, 1997; FERREIRA *et al.*, 2006b), Contudo, outros estudos tem demonstrado a presença de 4',7-dimetilquercetina, 7-O-p-glucopiranosil-4'-metilapigenina, friedelinol e cianidina-3-(p-cumarilco-cafeoil)-sofosósido (POMILIO; SPROVIERO, 1972). Um dos constituintes isolados como as lignanas, ( - ) - trachelogenina (1) e ( - ) - arctigenina (2), apresentaram um papel importante inibindo a replicação do vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-1; cepas HTLVIII B) *in vitro* (FERREIRA *et al.*, 2006b), sobretudo, tem apresentado atividade antagonista de  $Ca^{2+}$  e atividade citostática em células linfomáticas de ratos (L5178y), além de atividade neuroprotetiva *ex vivo* significativa contra toxicidade induzida por glutamato em cultura de células corticais de ratos (TRUMM *et al.*, 1989; PÁSKA *et al.*, 1999; JANG *et al.*, 2002; CHO-MINKYUNG *et al.*, 2004).

Embora a *I. cairica* seja amplamente utilizada na medicina popular, poucas informações são encontradas na literatura sobre suas atividades biológicas. Por outro lado, alguns compostos isolados desta espécie mostraram-se eficientes quando submetidos a testes biológicos em laboratório. Por exemplo, amostra de óleo essencial da *I. cairica* tem apresentado propriedades larvicidas contra diferentes larvas de mosquitos das espécies *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, *Culex tritaeniorhynchus* e *Culex quinquefasciatus* (THOMAS *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2006a).

## **2.6 *Cryptostegia grandiflora* R. Br**

*Cryptostegia grandiflora* R. Br (Figura 6) é uma espécie de videira pertencente à família Apocynaceae, nativa do sudoeste de Madagascar (África), onde também é encontrada no Egito e em vários outros países (HUTCHINSON, 1973). Popularmente, a planta é conhecida como alamada-roxa, boca-de-leão, cipó de borracha, viúva alegre, unha-de-onça e grajaú. No Estado do Ceará, a espécie é conhecida pelos populares pelos nomes “unha-de-gato”, “bombom” e “unha-de-bruxa”. É uma planta arbustiva, trepadeira e semi-herbácea (LORENZI; SOUZA, 1999).

Ocorre naturalmente em regiões áridas, porém com abundância de água. Essa aparente contradição pode ser explicada por essa espécie apresentar algumas características compartilhadas por plantas tolerantes ao estresse. Sua estratégia adaptativa deve-se, aparentemente, à grande produção de sementes, capacidade de aproveitamento de pouca umidade para germinação, desenvolvimento de raízes especializadas e boa captação de luz (GRICE, 1996).

A *Cryptostegia grandiflora* apresenta-se como uma espécie vegetal lenhosa, perene, com muitos caules, que cresce até 2 metros de altura, com longos chicotes. Uma seiva leitosa emana de caules, folhas e vagens quando cortada ou quebrada. As folhas são verde-escuras e brilhantes, com 6-10cm de comprimento, 3-5cm de largura e pares opostos. As raízes foram encontradas a uma profundidade de 13 metros nos poços das minas e quando mudas são duas vezes mais longas que as brotações (PIER, 2003).

A forma de crescimento da videira difere dependendo das condições do entorno. Eles podem formar copas densas de plantas com longos chicotes e capaz de crescer sobre árvores de até 30m de altura, e crescer como arbustos independentes na ausência de outra vegetação. As flores são grandes e vistosas, com cinco pétalas de cor branca a roxa clara em forma de funil. As vagens de sementes são rígidas, 10-12cm de comprimento, 3-4cm de largura e crescem em pares no final de um talo curto (PIER, 2003). Cada vagem contém numerosas sementes, cada semente tem um tufo de longos cabelos brancos sedosos (GRICE, 1996; WA, DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, 2002).

As sementes da *Cr. grandiflora* duram mais de 12 meses no solo, formam-se em grandes vagens com cerca de 15 cm de comprimento, muitas vezes encontradas em pares, unidas na base. Cada vagem produz de 340 a 840 sementes (GRICE, 1996; WA, DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, 2002). Acredita-se que em um único episódio reprodutivo, o grajaú pode produzir mais de 8000 sementes, episódio que pode ocorrer pelo menos duas vezes por ano (GRICE, 1996).

**Figura 6.** Características morfológicas de *Cryptostegia grandiflora* (L.) Sweet.



**Fonte:** <http://jardimdasideias.com.br/biblioteca-de-especies/53-cryptostegiagrandiflora>. Acessada em 03 de dezembro de 2018.

Embora endêmica de Madagascar, a espécie é amplamente distribuída em áreas tropicais, tendo sido introduzida como planta ornamental e fonte de látex na produção de borracha (JENKINS, 1944; TOMLEY, 1995). No Brasil, a *Cr. Grandiflora* figura na lista de espécies exóticas invasoras no semiárido da região Nordeste (CSIRO, Austrália, 2001; HERRERA; MAJOR, 2006).

Muitos estudos com *Cr. Grandiflora* estão relacionados ao controle da invasão dessa espécie em vários ecossistemas, muitos trabalhos relatam seus mais diversos usos. As fibras da planta são utilizadas na produção de redes e linhas de pesca (JUMELLE, 1907). A borracha, extraída a partir do látex, é considerada de boa qualidade e vem sendo utilizada desde a Segunda Guerra Mundial (BLASER, 1945; BAGBY *et al.*, 1981; AUGUSTUS *et al.*, 2000). Além da Borracha, o látex também é fonte de combustível (MEHTA *et al.*, 1982). Cook *et al.*, (1990), consideraram a *Cr. Grandiflora* uma espécie extremamente venenosa, sendo tóxica principalmente para ruminantes que morrem quase que imediatamente após ingestão da planta (WA, Departamento de Agricultura, 2002; DOAK *et al.*, 2004). Suas propriedades tóxicas têm sido muitas vezes utilizadas por grupos religiosos para cometer suicídios (CHOUX, 1931).

Na medicina popular, *Cr. Grandiflora* é utilizada no tratamento da gonorreia (JUMELLE, 1907) e, na Índia, as folhas são usadas para curar feridas, eczema e outros problemas de pele (MUKHERJEE *et al.*, 1999). Além disso, a literatura relata a presença de algumas atividades biológicas, tais como, atividade hipoglicemiante (SHARMA *et al.*, 1967;

DHAWAN *et al.*, 1977); atividade bactericida frente a cepas de *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus megatorium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus coagulans*, e anti-inflamatória em extratos de diversas partes da planta (KIRITIKAR; BASU, 1987; MUKHERJEE *et al.*, 1999; ALBUQUERQUE, 2008); atividade contra o vírus da herpes (VIJAYAN *et al.*, 2004) no extrato metanólico da planta; atividade moluscicida e antifúngica nos extratos da folha e do caule (ADEWUNMI; SOFOWORA, 1980; ABDALLAH *et al.*, 1990; VIJAYAN *et al.*, 2004).

Poucos são os registros relacionados às atividades biológicas presentes no látex dessa espécie. No entanto, proteínas do látex parecem participar de abordagens defensivas contra insetos (KONNO *et al.*, 2004). Além disso, o látex demonstrou repelir insetos (SINGHI *et al.*, 2004). Neste estudo, os fluidos laticíferos coletados de cinco plantas distintas foram avaliados quanto à atividade repelente através da análise da atividade dissuasiva na oviposição de duas pragas distintas de Bruchidae.

## 2.7 Justificativa

O uso de inseticidas químicos sintéticos no controle de culicídeos do gênero *Aedes* constitui uma das mais importantes estratégias adotadas pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Porém, a constante utilização desses produtos tem provocado um grande descontrole da população de mosquito, levando à seleção de linhagens resistentes, e também tem ocasionado outros efeitos indesejáveis, como poluição ambiental, acúmulo em tecidos animais e humanos, hipersensibilidade, irritabilidade e toxicidade em aves e mamíferos, bem como a outros organismos da fauna associadas, além de serem carcinogênicos e teratogênicos para os vertebrados (FERRER, 2003; WALISZEWSKI *et al.*, 2003; CARVALHO, 2011).

Diante dessa problemática, há uma necessidade de buscar novas alternativas ambientalmente seguras, potencialmente adequadas e mais eficazes para uso em programas de controle de vetores. Neste sentido, produtos naturais de origem vegetal, tais como extratos e óleos essenciais, vêm sendo amplamente testados quanto aos seus efeitos no controle de populações de insetos vetores de patógenos aos seres humanos, como o *Ae. albopictus*, relacionado com a transmissão do vírus dengue e outros arbovírus. Tais produtos, uma vez comprovada a eficácia no controle de insetos, podem servir como alternativa aos tradicionais inseticidas sintéticos utilizados.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Realizar a prospecção fitoquímica e avaliar a atividade larvicida e antioxidante dos extratos brutos e frações de *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia grandiflora* para o controle de *Ae. albopictus*.

#### 3.2 Específicos

- Avaliar a atividade larvicida dos extratos e frações obtidas do Bamburral (*Hyptis suaveolens*), Jitirana (*Ipomoea cairica*) e Grajaú (*Cryptostegia grandiflora*) sobre larvas de 3º e 4º estádios de *Ae. albopictus* após 24 e 48h;
- Determinar a concentração letal CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> dos extratos e frações obtidas do bamburral (*Hyptis suaveolens*), Jitirana (*Ipomoea cairica*) e Grajaú (*Cryptostegia grandiflora*), por meio de bioensaio de concentração em laboratório utilizando larvas de 3º e/ou 4º estágio de *Ae. albopictus*;
- Caracterizar os constituintes químicos dos extratos e frações do bamburral (*Hyptis suaveolens*), Jitirana (*Ipomoea cairica*) e Grajaú (*Cryptostegia grandiflora*) por meio de testes fitoquímicos;
- Determinar atividade antioxidante dos extratos e frações do bamburral (*Hyptis suaveolens*), Jitirana (*Ipomoea cairica*) e Grajaú (*Cryptostegia grandiflora*)

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Estruturas vegetais utilizadas

Para preparação dos extratos, foram utilizadas folhas de *Hyptis suaveolens* (Bamburrall), *Ipomoea cairica* (Jitirana) e *Cryptostegia grandiflora* (Grajaú). Os extratos e as frações foram enviados pela Universidade Federal do Piauí (UFPI) em abril de 2018. A identificação botânica das folhas foi caracterizada a partir das exsicatas (Figura 7) disponibilizado no Herbário Virtual do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (HV-JBRJ), através da plataforma REFLORA, de acordo com seus respectivos números de exsicatas, n°. 466 (*H. suaveolens*), n°. 1402 (*I. Cairica*) e n°. 6616 (*Cr. grandiflora*).

**Figura 7** – Exsicatas das estruturas aéreas de *H. suaveolens* (A), *I. cairica* (B) e *C. grandiflora* (C) utilizadas na identificação e caracterização das folhas para preparação dos extratos.



Fonte: reflora.jbrj.gov.br (2018). Acessado em 11 de outubro de 2018.

### 4.2 Processamento das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*.

As folhas coletadas foram lavadas, inicialmente, com água corrente oriunda da rede de abastecimento local. Em seguida, foram lavadas duas vezes com água destilada, com o

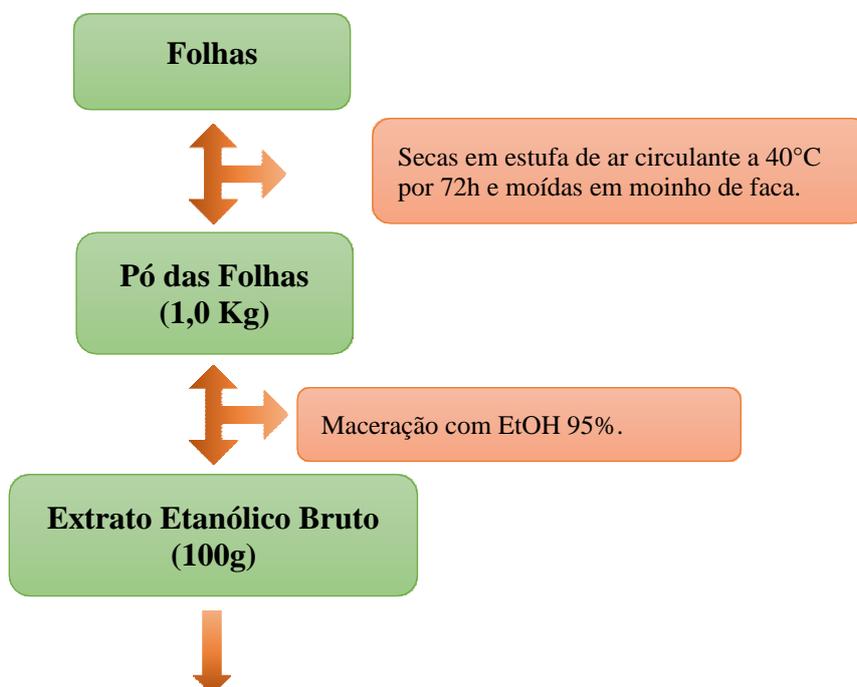
propósito de remover resquícios de sais e quaisquer outros elementos que porventura estejam aderidos à sua superfície.

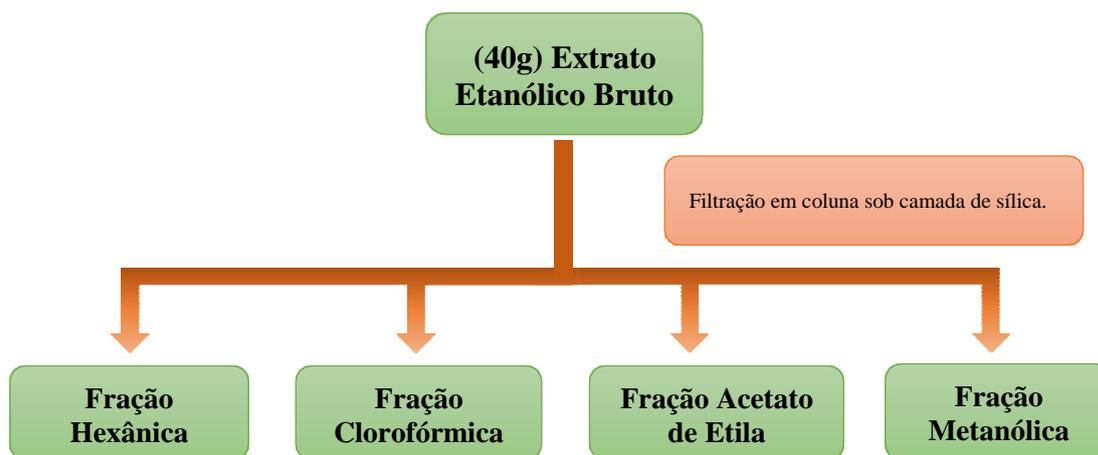
No laboratório, as folhas foram secas por 8 dias em estufa com temperatura de 37°C, e circulação de ar forçada. Conseqüentemente, as folhas secas foram levadas a um triturador, espécie de moinho de facas tipo Willye, modelo SL-032, obtendo-se (1 Kg) de pó seco.

#### 4.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*

Após a obtenção do pó das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*, ambas foram submetidas à extração a frio com etanol (EtOH) a 95%, em um recipiente (cada) de aço inoxidável denominado percolador durante 20 dias para garantir um máximo de extração dos constituintes químicos. A solução foi agitada diariamente durante o período de extração. O extrato foi filtrado em papel de filtro e destilado à temperatura de 60°C, sob pressão reduzida de 500 a 750 mmHg, em evaporador rotativo, modelo 802. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que de cada espécie vegetal obtida pesou 100g. O material concentrado foi armazenado em geladeira de 2°C a 8°C, para posteriormente serem fracionados (Esquema 1). O percentual de extração foi calculado pela relação peso do extrato/peso seco das folhas, multiplicado por 100 (ALI; RAVIKUMAR; BEULA, 2013).

**Esquema 1** – Esquema representativo para obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*.





Fonte: próprio autor (2018).

#### 4.4 Fracionamento dos extratos brutos etanólico (EBE) das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*

Para obtenção das frações, foram utilizados 40g do extrato bruto etanólico das folhas do bamburral, jiterana e grajaú, estes foram submetidos a uma cromatografia líquida em coluna, utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária e como fase móvel os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, seguindo o grau crescente de polaridade.

As frações foram preparadas a uma proporção de 3:1, onde três partes foram de sílica gel 60 e uma parte do extrato etanólico bruto das folhas de cada espécie vegetal, onde cada extrato foi filtrado separadamente em uma coluna de 10,0 cm de diâmetro e 1,20 m de comprimento, preenchida com 700,0 g de sílica-gel pura (aproximadamente 2/3 do tubo) para cromatografia. Em seguida, foram submetidos à partição pelos solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol.

#### 4.5 Prospecção dos constituintes químicos dos extratos brutos etanólico e frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*

As frações dos extratos das folhas foram submetidas à prospecção fitoquímica, seguindo-se procedimentos descritos na literatura (MATOS, 2009). Os métodos utilizados nessa abordagem são apenas qualitativos, e a presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa do outro, e tem como base as reações de coloração ou formação de precipitado.

Esta metodologia teve como objetivo detectar a presença de diversos constituintes químicos presentes nos extratos bruto etanólico do bamburral (EBEB), extrato bruto etanólico da jiterana (EBEJ) e no extrato bruto etanólico do grajaú (EBEG) e nas frações hexânica do extrato do bamburral (FHEB), clorofórmica do extrato do bamburral (FCEB), acetato de etila do extrato do bamburral (FAEEB), clorofórmica do extrato da jiterana (FCEJ) e clorofórmica do extrato do grajaú (FCEG). Para a realização dos testes, sete porções de 3 mL de cada extrato e fração da planta foram dissolvidos em clorofórmio e colocados em tubos de ensaios e numerados de 1 a 7, sendo então sete tubos para cada extrato bruto e fração, totalizando 56 tubos, onde cada tubo foi utilizado para um determinado teste referente a prospecção fitoquímica.

#### **4.5.1 Teste para fenóis e taninos**

Foram utilizados 3 mL de cada extrato bruto e frações das plantas e adicionadas três gotas de solução alcóolica de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$  1 mol.L<sup>-1</sup>), os mesmos foram agitados e a variação de cor e/ou formação de precipitado, observado. O resultado obtido foi comparado ao branco do teste e avaliado quanto a presença de fenóis e taninos.

A coloração variando entre azul e vermelho é indicativo de fenóis. A formação de um precipitado azul escuro indica à presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e de cor verde a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos).

A solução de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foi preparada adicionando-se 9 g deste reagente a 50 mL de água destilada contendo 2 mL de ácido clorídrico (HCl) 3 mol.L<sup>-1</sup>. Em seguida, o volume da mistura foi completado para 100 mL com etanol em um balão volumétrico. A solução de HCl 3 mol.L<sup>-1</sup> foi obtida pela mistura de 33,3 mL do ácido clorídrico concentrado (37%) em água destilada suficiente para 100 mL de solução, em um balão volumétrico (MATOS, 2009).

#### **4.5.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides**

Seguindo a metodologia de Matos (2009), tomou-se os tubos numerados de 2 a 4. Acidulou-se um em pH 3 com HCL 3mol.L<sup>-1</sup> e os tubos 3 e 4 foram alcalinizados respectivamente em pH 8,5 e 11 com NaOH 1mol.L<sup>-1</sup>. Para se obter a solução de NaOH 1 mol.L<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>, 4 g do reagente foram dissolvidos em 100 mL de água destilada. A interpretação dos resultados foi feita segundo parâmetros utilizados por Matos (2009).

#### **4.5.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas**

De acordo com a metodologia de Matos (2009), numerou-se dois tubos (T5 e T6), onde o primeiro foi acidificado com HCL 3 mol. L<sup>-1</sup> até pH 1-3 e o outro alcalinizado com NaOH 1 mol.L<sup>-1</sup> até pH 11. Com o auxílio de uma lâmpada de álcool, ambos os tubos foram aquecidos durante 2-3 minutos, cuidadosamente. Os tubos foram aquecidos cuidadosamente e a mudança de coloração foi observada. A interpretação dos resultados foi feita segundo parâmetros utilizados por Matos (2009).

#### **4.5.4 Teste para flavonóis, flavonas, flavanonóis e xantonas**

Detectar a presença de flavonóis, flavonas, flavanonóis e xantonas foi adicionado ao tubo de número sete (T7) partículas de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado. Foi aguardado o término da reação indicada pelo fim da efervescência, onde por comparação mudança na cor da mistura da reação nos tubos 5 e 7 (acidificados).

O aparecimento ou intensificação da cor vermelha será indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos. A interpretação dos resultados foi feita segundo parâmetros utilizados por Matos (2009).

#### **4.5.5 Teste para esteroides e triterpenoides (Lieberman-Burchard)**

Para determinar esteroides e triterpenoides dos extratos brutos e suas frações, foi extraído o resíduo seco do bécher duas a três vezes com 1-2 mL de clorofórmio, tendo o cuidado de triturar bem o resíduo com o solvente. Em seguida, filtrou-se a solução clorofórmica gota a gota em um pequeno funil fechado com uma bolinha de algodão e coberta com alguns decigramas de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, para um tubo de ensaio bem seco. Foi adicionado 1 mL de anidrido acético, agitado suavemente e juntado cuidadosamente três gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e agitado suavemente, observando se há um desenvolvimento de cores. Os resultados foram interpretados seguindo os parâmetros utilizados por Matos (2009).

A presença de esteroides apresenta uma coloração azul evanescente seguida de verde permanente. Já uma coloração parda até vermelha é indicativo de triterpenoides pentacíclicos livre.

#### **4.5.6 Teste saponinas**

Os resíduos insolúveis em clorofórmio, separados no teste anterior, foram solubilizados em água destilada e filtrados para tubo de ensaio. A solução foi fortemente agitada, por dois a três minutos até ser observada a formação de espuma, persistente e abundante (colarinho) que indica a presença de saponinas (MATOS, 2009).

#### **4.5.7 Teste alcaloides**

Para o teste de alcaloides adotou-se a metodologia estabelecida por Matos, (2009). Em uma solução clorofórmica com os extratos e as frações (20 mL) foi adicionado  $\text{NH}_4\text{OH}$  até alcançar pH 11. As bases orgânicas foram extraídas em três porções de 10, 20 e 30 mL de uma mistura éter-clorofórmio em funil de separação. A fração éter-clorofórmio coletada foi tratada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro para eliminação do excesso de água. O filtrado foi separado e as bases orgânicas foram extraídas com pequenas porções de HCl diluído. A solução éter-clorofórmio foi descartada, enquanto a solução aquosa ácida obtida foi dividida em três tubos de ensaio que receberam, respectivamente, três gotas dos reagentes de precipitação de alcaloides: “Hager”, “Mayer” e “Dragendorf”. O resultado é considerado positivo, quando ocorre o aparecimento de precipitado floculoso, pesado em pelo menos dois tubos é indicativo de alcaloides (Matos, 2009).

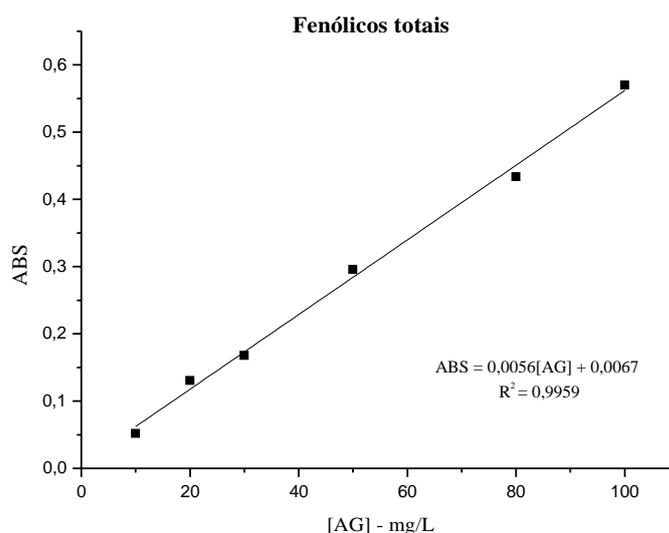
### **4.6 Determinação dos fenólicos totais utilizando o método Folin-Ciocalteu**

O método do Folin-Ciocalteu é um dos mais utilizados para a quantificação de compostos fenólicos em extratos de plantas (SOUZA *et al.*, 2007). O reagente utilizado é proveniente de uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstúico, no qual os dois metais (molibdênio e o tungstênio) se encontram, inicialmente, no estado de oxidação (VI), apresentando uma coloração amarela. Porém, em presença de certos agentes redutores (os compostos fenólicos, por exemplo), são formados molibdênio e tungstênio azul, nos quais o

estado de oxidação passa a ser (V) e, cuja coloração, permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (IKAWA *et al.*, 2003).

A quantificação de fenólicos totais presentes nos extratos brutos etanólico de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* foi realizada por meio de espectrofotometria, utilizando o método de Folin–Ciocalteu (BONOLI *et al.*, 2004). Os extratos (aproximadamente 50 mg) foram dissolvidos em metanol, transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL. Uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  desta solução foi agitada com 500  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada por 1 min; passado este tempo, 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 15% foram adicionados à mistura e agitada por 30 s. Finalmente, a solução teve seu volume acertado para 10 mL com água destilada. Após um período de, no máximo 2 h, a absorbância das amostras foi medida, a 750 nm. O teor de fenólicos totais (FT) foi determinado através da utilização de uma curva de calibração, cuja absorbância das amostras foi comparada com os valores obtidos para o padrão ácido gálico (pontos da curva de 10 a 350  $\text{mg L}^{-1}$ ) e expressos como mg de AG (ácido gálico) por g de extrato. A Equação da curva de calibração do ácido gálico foi  $\text{ABS} = 0,0056[\text{AG}] + 0,0067$ , onde [AG] é a concentração do ácido gálico, ABS é a absorbância, a 750 nm e o coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9959$ , conforme apresentado na Figura 8.

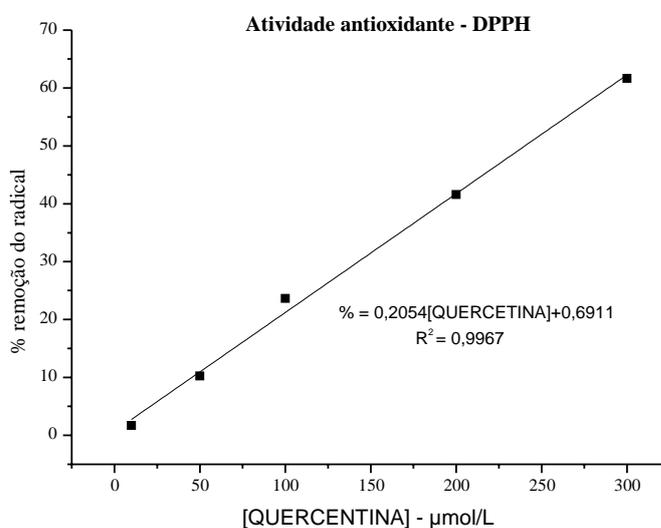
**Figura 8.** Curva de calibração de fenólicos totais utilizando o método do Folin- Ciocalteu.



#### 4.7 Determinação da atividade antioxidante pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi realizada seguindo metodologia de Brand-Williams *et al.* (1995) com modificações de Alves *et al.* (2008), monitorando-se o consumo do radical livre DPPH. Estas medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (Modelo Varian 1E), e a atividade antioxidante dos extratos brutos etanólico das plantas *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* (aproximadamente 50 mg) foram dissolvidos em metanol, transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL. A solução de DPPH foi preparada pela dissolução do radical livre em metanol, para a obtenção de uma solução 60 µmol/L. Para a realização do método, 100 µL da solução dos extratos das plantas foram misturados a 3,9 mL da solução metanólica do DPPH. Após um período de contato de 30 min, as amostras dos extratos foram lidas em um comprimento de onda 515 nm. A capacidade antioxidante dos extratos foi realizada em comparação com a quercetina (THOO *et al.*, 2010) com a curva de calibração de concentração do padrão variando de 10 a 300 µmol de quercetina/L. A Equação da curva de calibração foi construída [QUERCETINA] versus % remoção do radical DPPH, sendo obtido a curva: com  $\%_{\text{(remoção)}} = 0,2054 * [\text{QUERCETINA}] + 0,6911$ , conforme apresentado na figura 9, onde os resultados foram expressados em [QUERCETINA]/g extrato.

**Figura 9.** Curva de a atividade antioxidante pelo método do DPPH, utilizando o padrão quercetina.



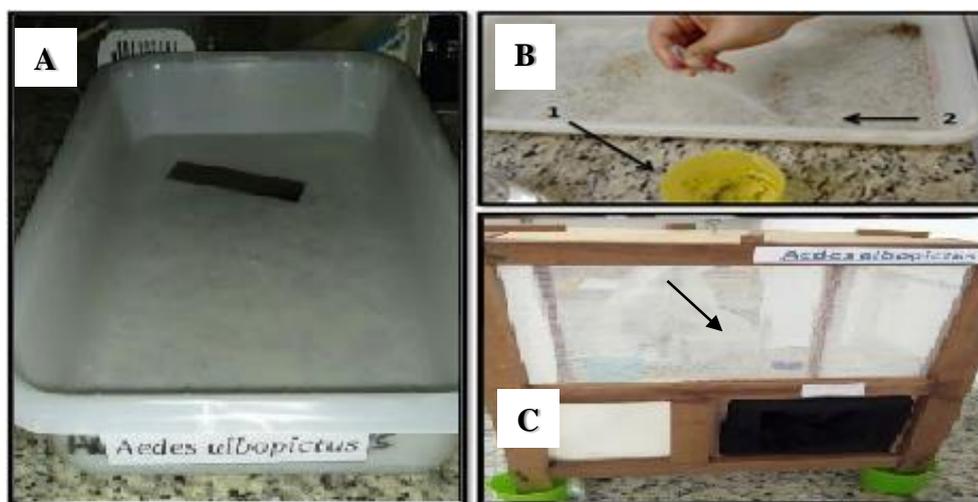
#### **4.8 Obtenção dos ovos de *Aedes albopictus***

As palhetas contendo ovos de *Aedes albopictus*, foram obtidas no Laboratório de Entomologia Dr. Thomas Corrêa Aragão, localizado no Núcleo de Controle de Vetores (NUVET), da Secretária de Saúde do Estado do Ceará (SESA-CE) e enviadas ao Laboratório de Entomologia Médica do Departamento de Patologia e Medicina Legal (DPML) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

#### **4.9 Estabelecimento e manutenção das larvas, e identificação de adultos de *Aedes albopictus***

As palhetas obtidas foram imersas em uma bandeja retangular (33cm x 24cm x 8cm<sup>3</sup>) contendo água limpa para induzir a eclosão dos ovos (Figura 10A), cujas larvas resultantes foram alimentadas diariamente com ração para tartarugas à base de proteína de soja da marca Reptolife (Alcon-club<sup>®</sup>) e mantidas sob temperatura ambiente. As pupas resultantes foram distribuídas em recipientes plásticos de 50 mL (50 larvas/ recipiente) (Figura 10B), os quais foram inseridos no interior da gaiola, adaptadas à manutenção das formas aladas emergentes (Figura 10C). Uma vez atingido o estágio adulto, os mosquitos, identificados de acordo com chave de classificação específica (FORATTINI, 1986), foram alimentados com solução açucarada a 10%, embebida em rolo dental, armazenado em um frasco com tampa (mamadeira) e para o repasto sanguíneo das fêmeas foram utilizadas codornas (*Coturnix coturnix*) anestesiadas. Em acordo com QADIR (2014), os mosquitos foram expostos a um fotoperíodo controlado, com 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

**Figura 10:** Esquema representativo de atividades de manutenção de colônia de *Aedes albopictus*.



Fonte: gerados pelo autor.

#### 4.10 Atividade larvicida dos extratos brutos etanólico e frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*.

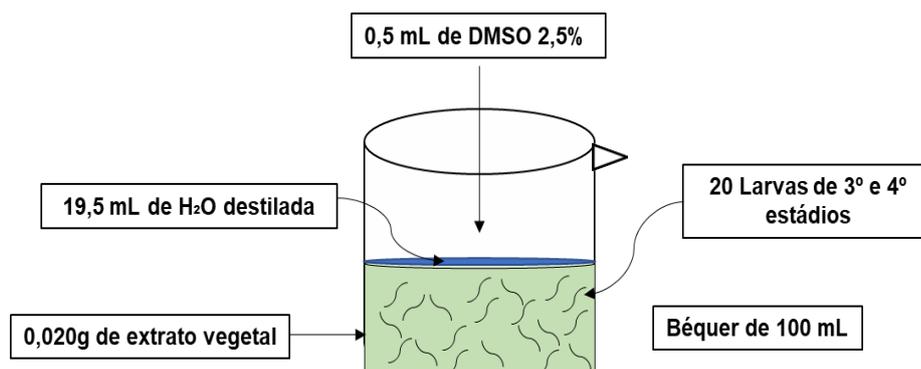
Para avaliar atividade larvicida dos extratos bruto e das frações das folhas do bamburral, os extratos foram pesados em balança analítica (Analítica®). Em seguida, foram solubilizados em 0,5 mL com Dimetilsulfóxido (DMSO) a 2,5%. Para o bioensaio, foi preconizado um volume total de 20 mL (19,5 mL de água destilada e 0,5 mL de DMSO) para cada concentração analisada (Figura 11).

As larvas (20 espécimes) de 3° e 4° estádios da geração de descendentes oriundos das colônias mantidas em laboratório (F1) de *Ae. albopictus*, foram utilizadas para os ensaios larvicidas com os extratos brutos (EBEB, EBEJ e EBEG) e frações (FHEB, FCEB, FAEEB, FCEJ e FCEG) de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1981).

Na realização do bioensaio, o extrato bruto etanólico e as frações do bamburral, jitirana e grajaú foram analisadas a uma concentração de 1000, 500, 400, 300 e 250 ppm. Nesses ensaios os testes foram realizados em triplicatas, sendo três réplicas de cada concentração e três réplicas do controle negativo sem a adição do extrato vegetal, contendo apenas DMSO 2,5% e água destilada. Após aplicação dos extratos, foram realizadas as leituras em 24 e 48 horas, fazendo-se a contagem das larvas mortas. A mortalidade das larvas foi verificada após estímulos mecânicos com auxílio de uma pinça metálica. A partir de então, estimou-se as concentrações

letais dos ebe e das frações responsáveis pela mortalidade de 50% (CL<sub>50</sub>) dos espécimes testados.

**Figura 11.** Esquema representativo dos bioensaios larvicidas com os extratos brutos e as frações de *H. suaveolens* (bamburral), *I. cairica* (jitirana) e *Cr. grandiflora* (grajaú).



Fonte: gerados pelo autor.

#### 4.11 Análise estatística dos dados.

Os dados da mortalidade obtidos dos bioensaios de dose, foram utilizados para determinação da Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) e Concentração Letal Final (CL<sub>90</sub>), realizadas pela análise de probit (FINNEY, 1971) considerando o nível de significância de 95%, calculada com auxílio do programa POLO PC® (LeOra Software Berkeley, CA) por meio de Regressão Linear dose-resposta. O teste de múltiplas faixas de Tukey (P < 0,05) foi usado para tomar decisões estatísticas sobre a diferença entre os grupos vegetais e os dados de mortalidade dose e tempo.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento das extrações dos extratos bruto etanólico e frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

Após maceração exaustiva das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*, foram obtidos os extratos brutos e frações das plantas para serem analisadas na forma de uma massa mucilaginosa (Tabela 2).

**Tabela 2** – Rendimento dos Extratos bruto e frações das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *C. grandiflora*.

Extratos e Frações	Solventes	Massa obtida para o extrato bruto e frações das folhas (g)
EBEB	Etanol	4,5062
EBEJ	Etanol	3,4493
EBEG	Etanol	3,5113
FHEB	Hexano	1,5002
FCEB	Clorofórmio	1,5003
FAEEB	Acetato de Etila	0,1154
FMEB	Metanol	0,0980
FCEJ	Clorofórmio	1,0176
FMEJ	Metanol	1,4976
FCEG	Clorofórmio	1,5011
FMEG	Metanol	1,3397

**Fonte:** dados gerados pelo autor.

O interesse no desenvolvimento de pesticidas de origem natural aumentou nos últimos anos devido à desvantagem dos pesticidas químicos sintéticos, como o impacto no ambiente e a toxicidade para organismos não-alvo, incluindo humanos, e devido ao desenvolvimento de resistência em populações de insetos alvo.

Especificamente, a possibilidade de explorar matérias-primas disponíveis de baixo custo e renováveis, como resíduos, para um possível uso individual na área urbana contra mosquitos vetores pode levar ao desenvolvimento de estratégias de controle promissoras, especialmente em países em desenvolvimento (SUKUMAR *et al.*, 1991). Vários extratos vegetais e/ou frações da mesma, foram relatados para ser biologicamente ativo contra praga de inseto (GEMEDA *et al.*, 2014). Aqui, a atividade larvicida de extratos bruto e frações das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* foram investigadas.

A eficácia larvicida das frações testadas foi dependente da dose. Os resultados do bioensaio foram demonstrados a partir de tabelas e figuras descritivas, daí então, foram avaliados os principais fatores que interferiram no número de larvas mortas durante o tratamento com os extratos brutos e frações das folhas de *Hyptis suaveolens* (bamburral), *Ipomoea cairica* (Jitirana) e *Cryptostegia grandiflora* (Grajaú).

## **5.2 Avaliação da atividade larvicida dos extratos brutos etanólico e frações de *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia grandiflora*.**

### **5.2.1 Bioensaio de dose**

Os resultados dos ensaios de atividade larvicida foram demonstrados, a partir de gráficos e tabelas descritivas, onde foram avaliados os principais fatores que podem interferir no número de larvas mortas durante o tratamento com os diversos produtos naturais de origem vegetal.

Como variáveis do presente estudo tem-se o número de larvas mortas durante o tratamento, variável dependente, e como variáveis independentes: a amostra vegetal utilizada no tratamento, dividido em onze categorias, os extratos bruto do Bamburral (EBEB), da Jitirana (EBEJ), do Grajaú (EBEG) e das frações hexânica do Bamburral (FHEB), clorofórmica do Bamburral (FCEB), acetato de etila do Bamburral (FAEEB), metanólica do Bamburral (FMEB), clorofórmica da Jitirana (FCEJ), metanólica da Jitirana (FMEJ), clorofórmica do Grajaú (FCEG) e metanólica do Grajaú (FMEG); as larvas utilizadas de *Ae. albopictus* (Aa); o tempo de exposição de 24h e 48h; e a concentração do produto natural dividido em quatro categorias para os extratos brutos (400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 800 µg/mL e 1000 µg/mL) e cinco categorias para as frações (250 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL), sendo todos os ensaios realizados com um total de 20 larvas de 3º e 4º estádios.

Na Tabela 3, pode-se observar uma análise descritiva das variáveis independentes (extratos e/ou frações, concentrações e tempo de exposição) em relação a variável dependente (mortalidade larval). O n é o número de ensaios onde são verificadas as mortalidades para cada variável independente.

Os extratos naturais que condicionaram uma maior mortalidade larval foram EBEB (88,33%), FCEJ (74,67%) e FHEB (67,00%), sendo o primeiro extrato bruto (etanólico) e as duas últimas frações (clorofórmica e hexânica).

**Tabela 3** – Resultados dos bioensaios seletivos com os extratos brutos e frações das folhas do bamburral, jitirana e grajaú contra larvas de *Aedes albopictus*.

Amostras	Concentrações ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	N (Amostral)	<i>Ae. albopictus</i> Mortalidade (%)	
			24 h	48 h
EBEB	1000	60	91,67	100,00
	600	60	68,33	100,00
	600	60	56,67	91,67
	400	60	10,00	61,67
EBEJ	1000	60	81,67	98,33
	600	60	53,33	86,67
	600	60	40,00	50,00
	400	60	18,33	31,67
EBEG	1000	60	61,67	100,00
	600	60	26,67	73,33
	600	60	16,67	61,67
	400	60	8,33	30,00
FHEB	1000	60	100,00	100,00
	500	60	81,67	88,33
	400	60	53,33	61,67
	300	60	38,33	51,67
	250	60	26,67	33,33
FCEB	1000	60	85	91,67
	500	60	53,33	65,00
	400	60	43,33	55,00
	300	60	28,33	45,00
	250	60	20	41,67
FAEB	1000	60	65	93,33
	500	60	15	36,67
FMEB	1000	60	15	38,33
FCEJ	1000	60	100	100
	500	60	86,67	92
	400	60	75	83,33
	300	60	66,67	67
	250	60	18,33	31,67
FMEJ	1000	60	5	6,67
FCEG	1000	60	38,33	73
	500	60	21,67	37
FMEG	1000	60	1,67	5,00
Controle negativo	DMSO 2,5%	60	00	00
Controle positivo	Temefos	60	100	100

Fonte: dados gerados pelo autor.

Nos testes foram utilizadas 20 larvas por béquer em triplicata;

Controles: DMSO 2,5 %.

Controle Positivo: Temefos a 0,012mg/mL

**EBEB** – Extrato bruto etanólico do bamburral

**EBEJ** – Extrato bruto etanólico da jitiрана;

**EBEG** – Extrato bruto etanólico do grajaú

**FHEB** – Fração hexânica do bamburral;

**FCEB** – Fração clorofórmica do bamburral;

**FAEEB** – Fração acetato de etila do bamburral;

**FMEB** – Fração metanólica do bamburral;

**FCEJ** – Fração clorofórmica da jitiрана;

**FMEJ** – Fração metanólica da jitiрана;

**FCEG** – Fração clorofórmica do grajaú;

**FMEG** – Fração metanólica do grajaú.

Considerando a mortalidade das larvas nos extratos brutos e nas frações utilizadas no bioensaios, observa-se que os extratos EBEB, EBEJ e EBEG e as frações FHEB, FCEB e FCEJ, foram as que apresentaram as menores concentrações com atividade larvicida comparando-se com as outras amostras vegetais analisadas.

Analisando atividade larvicida das amostras de extratos brutos das espécies *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*, observou-se que o extrato EBEB, apresentou a melhor atividade entre as quatro maiores concentrações analisadas (1000, 800, 600 e 400 µg/mL), com mortalidade de 100%, 100%, 91,67 e 61,67% respectivamente. Dados esses que corrobora com o estudo realizado por Conti *et al.*, (2012), em que demonstraram atividade larvicida de *H. suaveolens*, contra larvas de *Ae. albopictus*, tendo em vista que, a mortalidade foi dependente da dose, ou seja, as maiores dosagens tiveram maior mortalidade, enquanto as menores dosagens tiveram menor mortalidade.

Pode-se observar que o extrato EBEJ também apresentou atividade entre as três maiores concentrações testadas (1000, 800 e 600 µg/mL), onde induziu 100%, 98,33% e 86,67% de mortalidade respectivamente. Estudo realizado por Samuel *et al.*, (2014), observaram que na concentração de 500 µg/mL do extrato bruto clorofórmico das folhas de *I. cairica*, induziu a mortalidade de 77,23% das larvas de *Aedes aegypti* (L.). Por outro lado, extratos de éter de petróleo da folha de *I. cairica* e *Hyptis suaveolens* não mostraram atividade larvicida efetiva contra larvas de *Culex spp.* (OKIGBO *et al.* 2010; SAMUEL *et al.*, 2014). É

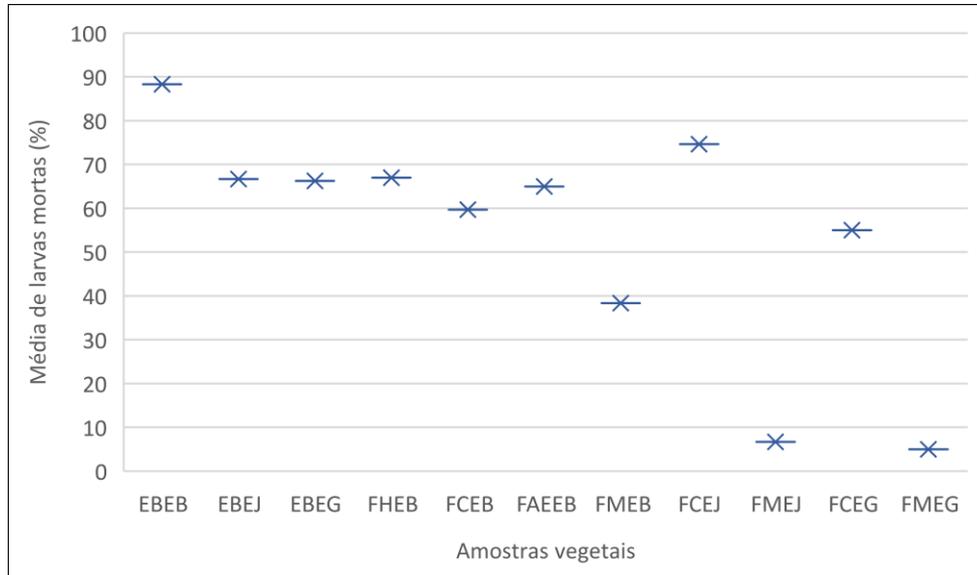
importante destacar que a ação larvicida de um extrato vegetal pode variar de maneira significativa de acordo com a espécie de inseto a ser desafiada com tais produtos, a espécie e a idade da planta, região geográfica de sua ocorrência (existência de quimiotipos), as estruturas utilizadas e a polaridade do solvente utilizado durante o processo de obtenção (CHENG *et al.*, 2009)

Os extratos fracionados, também apresentaram atividade contra as larvas de *Ae. albopictus*, dentre as frações que apresentaram alto índice de mortalidade, a fração FCEJ apresentou atividade nas quatro maiores concentrações (1000, 500, 400 e 300 µg/mL) analisadas, assim induziram mortalidade larval de 100%, 92%, 83,33% e 67% respectivamente, em um período de 24 horas de exposição ao larvicida. Isso demonstra que a potencialidade do biocontrole da fração (FCEJ), contra larvas tardias de terceiro e quarto estágio de *Ae. albopictus* foi bem estabelecido em condições de laboratório. Resultado promissor também tem sido observado em outro estudo realizado a partir de óleo essencial de *I. cairica* (Jitirana), onde os autores demonstraram propriedade larvicida notável contra outras espécies de culicídeos, causando 100% de mortalidade em *Culex tritaeniorhynchus*, *Ae. aegypti*, *Ae. stephensi* e *Culex quinquefasciatus* nas concentrações de 100, 120, 120 e 170 µg/mL, respectivamente (THOMAS *et al.*, 2004). Isso demonstra a potencialidade da *I. cairica* não só contra larvas de *Ae. albopictus*, mais também sobre outras espécies de vetores. Nas demais concentrações, a mortalidade foi inferior a 50% na leitura de 24 horas.

Então, acredita-se que um dos fatores que possam contribuir para o aumento dessa mortalidade seja o fator residual dos extratos, por constituírem de metabólitos secundários ativos. Tendo em vista que as plantas produzem uma quantidade imensurável de compostos bioativos, classificados como metabólitos secundários, os quais são dotados de estruturas químicas de altíssima complexidade (SIMÕES *et al.*, 2017).

Observou-se, a partir da Figura 12, os perfis médios de larvas mortas diante do tratamento com os diversos produtos naturais de origem vegetal, onde a menor proporção é encontrada em FMEG e a maior em EBEB.

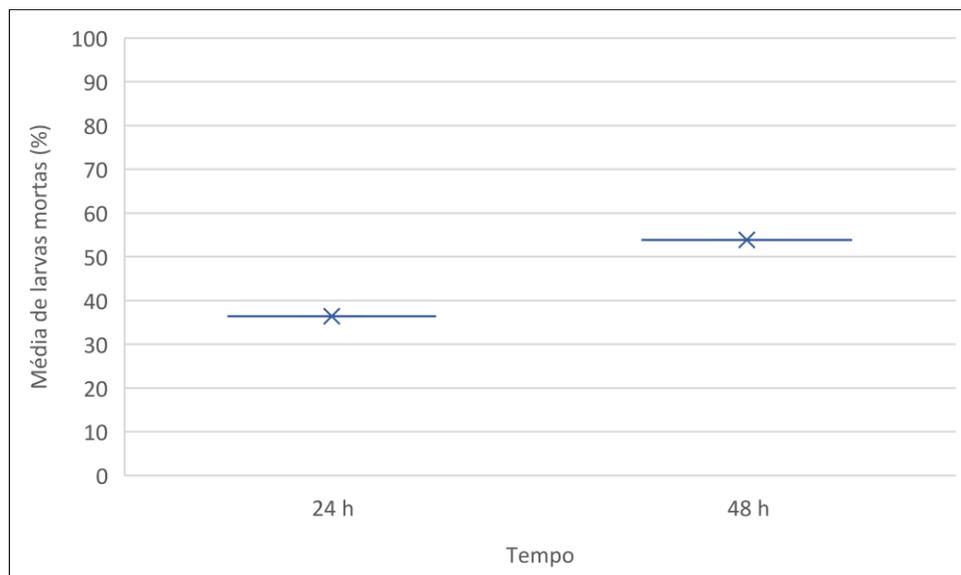
**Figura 12.** Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tipo de larvicida natural.



**Fonte:** dados gerados pelo autor.

Considerando-se os valores de mortalidade nos intervalos de leitura de 24 e 48 horas, observa-se que o tempo influencia no número de larvas mortas. (Figura 13).

**Figura 13.** Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tempo de exposição.

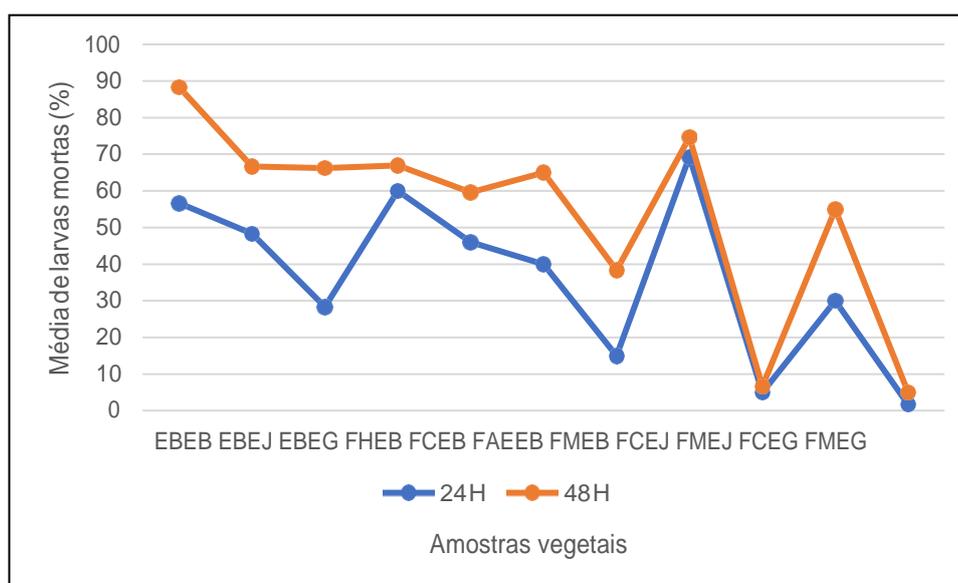


**Fonte:** dados gerados pelo autor.

Nota-se na Figura 14 a interação entre as amostras utilizadas e o tempo, tendo-se como a fração metanólica do grajaú (FMEG) como padrão para comparação com os demais. Deste modo, observa-se que o efeito do tempo é diferente nas diversas amostras vegetais utilizadas quando verificada a proporção de larvas mortas durante o tratamento, extrato (EBEB) e frações (FHEB e FCEJ) interagem com um tempo de exposição de forma bastante divergente do que é notado na fração FMEG.

Desta forma, as amostras EBEB, EBEJ, EBEG, FHEB, FCEB, FAEEB, FCEJ e FCEG que apresentaram mortalidade acima de 50% foram selecionados com objetivo de determinar as concentrações letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ ).

**Figura 14.** Perfis médios de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação amostras vegetais x tempo de exposição.



**Fonte:** dados gerados pelo autor.

Diante das proporções de larvas mortas nos ensaios realizados, foi possível determinar a concentração necessária para condicionar a morte de 50% das larvas de *Ae. albopictus* utilizadas nos testes (Tabela 4).

Entretanto, a partir dos bioensaios de dose, foram obtidos os valores das concentrações letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ ) através da análise de probit, considerando o intervalo de confiança no nível de significância de 95%, verificando o qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e a equação de regressão ( $y=(a+5) + b.\log x$ ) que corresponde a reta linear de dose-resposta.

A concentração letal para as diferentes amostras testadas neste estudo é demonstrada na Tabela 6, é possível notar em um tempo de exposição de 24 horas uma menor  $CL_{50}$  para FCEJ (309,45 mg/L), seguida de FHEB (360,76 mg/L). Sendo, portanto, as larvas de *Ae. albopictus*, resistentes ao tratamento com a fração FCEG (2360,76 mg/L). De forma similar, é possível demonstrar as  $CL_{90}$  de acordo com as amostras vegetais utilizadas e o tempo de 24 horas de exposição, sendo identificadas as menores concentrações para FCEJ (494,93 mg/L), FHEB (582,11 mg/L) e EBEB (962,67 mg/L) respectivamente, com intervalos de confiança de 95%. Estes resultados têm demonstrado que as larvas de terceiro e quarto instar de *Ae. albopictus*, são susceptíveis às concentrações testadas dessa amostras vegetais, comparadas as frações hexânica (FHEB), clorofórmica (FCEB) e acetato de etila (FAEEB) do bamburral, em que apresentaram valores maiores nas  $CL_{50}$  (360,76  $\mu\text{g/mL}$ , 501,57  $\mu\text{g/mL}$  e 864,49  $\mu\text{g/mL}$ ) e  $CL_{90}$  (582,11  $\mu\text{g/mL}$ , 1090,91  $\mu\text{g/mL}$  e 1315,18  $\mu\text{g/mL}$ ) respectivamente.

Diante da atividade larvicida manifestada pelas frações FCEJ e FHEB sobre a cepa de *Ae. albopictus*, eles podem ser considerados fortes candidatos para o controle dos mosquitos *Aedes* spp. Ishak *et al.*, (2014) defendem a utilização de compostos de origem vegetal como alternativa ao controle com base em produtos químicos sintéticos, por considerar que estes oferecem menos prejuízos ao meio ambiente. Estes autores, nos ensaios larvicidas vegetais contra *Ae. albopictus*, utilizaram extratos metanólico de várias estruturas de *I. cairica* e obtiveram  $CL_{50}$  de 21,7 – 37,6 mg/L. Daí, consideraram este como um suposto larvicida no controle integrado de *Aedes* spp. Além disso, Conti *et al.*, (2012) acreditam que larvicidas a partir de *H. suaveolens* também demonstram consideravelmente atividade larvicida.

**Tabela 4** – Valores de  $CL_{50}$  e  $CL_{90}$  das frações do bamburral, jitirana e grajaú contra larvas de *Ae. albopictus* após 24 horas de exposição.

Amostra	$CL_{50}$ (LCL - UCL) (ppm)	$CL_{90}$ (LCL - UCL) (ppm)	Equação de regressão	$R^2$	(x2)	P valor
EBEB	643,40 (594,09 – 688,99)	962,67 (895,07 – 688,99)	$Y = 0,026X - 6,633$	0,889	12,385	0,260 <sup>a</sup>
EBEJ	717,13 (655,70 – 780,93)	1168,16 (1052,63 – 1364,54)	$Y = 0,02X - 4,567$	0,944	4,068	0,944 <sup>a</sup>
EBEG	942,70 (869,99 – 1053,84)	1397,46 (1236,74 – 1693,35)	$Y = 0,017X - 6,233$	0,823	7,701	0,658 <sup>a</sup>
FHEB	360,76 (330,54 – 391,34)	582,11 (523,73 – 687,27)	$Y = 0,018X + 2,976$	0,804	4,737	0,981 <sup>a</sup>
FCEB	501,57 (428,76 – 579,53)	1090,91 (936,89 – 1362,43)	$Y = 0,015X + 2,176$	0,800	13,804	0,313 <sup>a</sup>
FAEEB	864,49 (776,59 – 973,18)	1315,18 (1158,27 – 1623,79)	$Y = 0,02X - 7$	0,882	4,74	0,315 <sup>a</sup>

FCEJ	309,45(277,66–334,85)	494,93 (454,94 – 561,20)	$Y = 0,015X + 6,273$	0,546	21,049	0,072 <sup>a</sup>
FCEG	2360,76 N.E	5404,35 N.E	$Y = 0,003X - 3$	0,035	19,444	0,001 <sup>b</sup>

**Fonte:** dados gerados autor.

LCL – Limite mínimo de confiança;

UCL – Limite máximo de confiança;

N.E – Não estimado limite de confiança a 95%

a – Como o nível de significância é maior que 0,05, nenhum fator de heterogeneidade foi usado no cálculo de limites de confiança.

**EBEB** – Extrato bruto etanólico do bamburral

**EBEJ** – Extrato bruto etanólico da jitiirana;

**EBEG** – Extrato bruto etanólico do grajaú

**FHEB** – Fração hexânica do bamburral;

**FCEB** – Fração clorofórmica do bamburral;

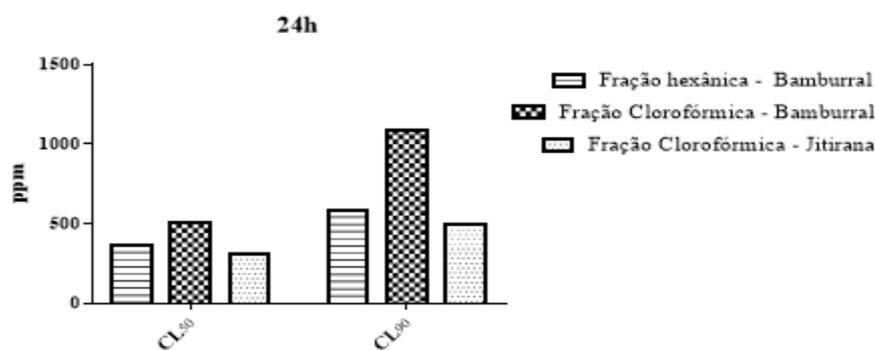
**FAEEB** – Fração acetato de etila do bamburral;

**FCEJ** – Fração clorofórmica da jitiirana;

**FCEG** – Fração clorofórmica do grajaú;

De acordo com a mortalidade das larvas entre as amostras analisados sobre *Ae. albopictus* no intervalo de 24 horas, as três melhores amostras estão representadas nas Figura 15, os resultados indicam que os dados se ajustaram a análise de probit, exceto a fração clorofórmica do grajaú (FCEG) que não se ajustou, como mostra o programa.

**Figura 15.** Mortalidade das larvas de *Ae. albopictus* nas três melhores frações (FHEB, FCEB e FCEJ) analisadas no intervalo de leitura de 24 horas.



**Fonte:** dados gerados pelo autor.

O modo de ação da maioria dos extratos fracionados de plantas em larvas de *Ae. albopictus* ainda é desconhecido. Estudos anteriores relataram que os fitoquímicos poderiam

interferir no funcionamento adequado das mitocôndrias, particularmente no local de transferência de prótons (CHAKKARAVARTHY *et al.*, 2011). Além de, algumas moléculas bioativas de extratos vegetais afetam principalmente a superfície epitelial do intestino médio e secundariamente o ceco gástrico e os túbulos de Malpighi nas larvas do mosquito (REY *et al.*, 1999).

Estendendo-se a observação da mortalidade das larvas de *Ae. albopictus* frente as amostras vegetais em um intervalo de 48 horas de exposição, as concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) das amostras vegetais estão representadas na Tabela 5.

**Tabela 5** – Valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> dos extratos e frações do bamburral, jitirana e grajaú contra larvas de *Ae. albopictus* após 48 horas de exposição.

Amostra	CL <sub>50</sub> (LCL – UCL) (ppm)	CL <sub>90</sub> (LCL – UCL) (ppm)	Equação de regressão	R <sup>2</sup>	(χ <sup>2</sup> )	P valor
EBEB	316,83 (280,17 – 345,95)	569,11 (521,50 – 651,54)	Y = 0,012X + 9,033	0,631	13,804	0,605a
EBEJ	548,54 (494,26 – 594,39)	854,68 (792,33 – 946,72)	Y = 0,024X – 3,233	0,958	4,579	0,917a
EBEG	547,08 (419,60 – 633,31)	886,05 (777,20 – 1124,25)	Y = 0,022X – 2,267	0,823	23,916	0,008 b
FHEB	316,83 (280,17 – 345,95)	537,48 (485,17 – 632,86)	Y = 0,016X + 5,68	0,706	9,383	0,743 <sup>a</sup>
FCEB	291,56 (151,22 – 380,11)	986,42 (822,55 – 1326,90)	Y = 0,011X + 6,931	0,582	20,935	0,051 <sup>a</sup>
FAEEB	592,49 (505,51 – 665,88)	940,40 (844,99 – 1100,54)	Y = 0,023X – 4	0,954	2,402	0,662 <sup>a</sup>
FCEJ	279,88 (243,54 – 306,04)	456,276 (420,83 – 514,52)	Y = 0,013X + 8,395	0,530	11,727	0,550 <sup>a</sup>
FCEG	661,33 N.E	1358,08 N.E	Y = 0,014X + 0,667	0,232	56,533	0,001 <sup>b</sup>

**Fonte:** próprio autor.

LCL – Limite mínimo de confiança;

UCL – Limite máximo de confiança;

N.E – Não estimado o limite de confiança a 95%

a – Como o nível de significância é maior que 0,05, nenhum fator de heterogeneidade foi usado no cálculo de limites de confiança.

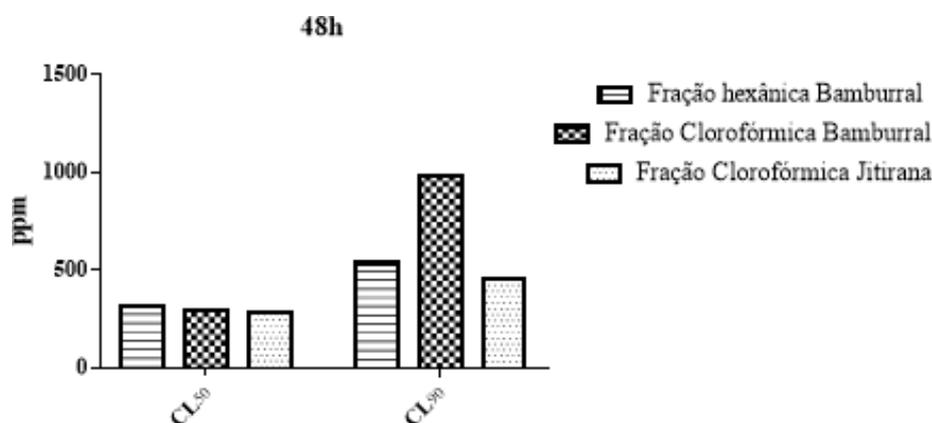
Após um maior tempo de exposição das larvas aos larvicidas utilizados, verificou-se as concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) das amostras em um intervalo de 48 horas. No entanto, a fração FCEJ apresentou o menor valor de CL<sub>50</sub> 279,88 µg/mL e CL<sub>90</sub> 456,27 µg/mL, com intervalos de confiança de 95%. Estes resultados também demonstram que as larvas de terceiro e quarto instar de *Ae. albopictus*, são susceptíveis às concentrações testadas mesmo em um intervalo de exposição maior, isso comparadas as frações FHEB e FCEB (Figura 16), que

apresentaram valores maiores nas CL<sub>50</sub> (316,83 µg/mL e 291,56 µg/mL) e CL<sub>90</sub> (537,48 µg/mL e 986,42 µg/mL) respectivamente. Contudo, ambas amostras demonstraram bioatividade em nível satisfatório neste intervalo de tempo. A variação dos valores de CL<sub>50</sub> pode ser devida a diferenças nos níveis de toxicidade dos componentes inseticidas específicos em cada fração vegetal. Acredita-se, que o isolamento e a identificação das moléculas puras que exercem a atividade larvicida podem permitir avaliar mais profundamente essas diferenças. Entretanto, a atividade larvicida destas frações ainda não foi evidenciada na literatura contra larvas de *Ae. albopictus*.

Os relatos identificados na literatura sobre a ação larvicida de extratos de outras plantas contra mosquitos *Aedes* spp. resumem-se, predominantemente, ao controle de *Ae. aegypti*: *Andrographis paniculata* (CL<sub>50</sub>= 146,3 mg/L), *Carica papaya* (CL<sub>50</sub>= 107 mg/L), *Dalbergia oliveri* (CL<sub>50</sub>= 153,7 mg/L), *Pongamia pinnata* (CL<sub>50</sub>= 118,2 mg/L) e *Datura stramonium* (CL<sub>50</sub>= 288, 0 mg/L) (GOVINDARAJAN *et al.*, 2011; ISHAK *et al.*, 2014; PLUEMPANUPAT *et al.*, 2013; KOLLI *et al.*, 2013; RAJASEKARAN; DURALKANNAN *et al.*, 2012).

Os trabalhos relacionados ao controle de *Ae. albopictus* com a utilização de produtos naturais são menos difundidos em comparação com os relacionados ao *Ae. aegypti*, isso se justifica por ele ser considerado o vetor mais importante de dengue, e demais arboviroses transmitidas por *Aedes* spp. (SOUZA; SILVA; SILVA, 2010).

**Figura 16.** Mortalidade das larvas de *Ae. albopictus* nas três melhores frações (FHEB, FCEB e FCEJ) analisadas no intervalo de leitura de 48 horas.



Fonte: próprio autor.

As amostras vegetais fracionadas de *H. suaveolens* (bamburral) e *I. cairica* (jitirana) são, portanto, promissoras como alternativas aos inseticidas sintéticos em programas de controle de mosquitos, fornecendo assim a base para o uso dos extratos vegetais contra larvas de *Ae. albopictus*.

O resultado da análise de variância (ANOVA) de uma via dos extratos brutos etanólico (EBEB, EBEJ e EBEG) e das frações (FHEB, FCEB, FAAEB, FCEJ e FCEG) de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* realizadas a partir de diferentes concentrações (500-1000 ppm) e intervalos de tempos (24 e 48 h), revelaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos dados de mortalidade larval em um dos períodos de exposição. Diante dos resultados descritos na tabela 6, indicam que houve efeito significativo do grupo sobre a mortalidade das larvas em um intervalo de 24 horas ( $F = 6,635$ ;  $gl = 7$ ;  $p < 0,05$ ), no entanto, após 48h de exposição das larvas de *Ae. albopictus* frente aos grupos analisados, não evidenciou diferença significativa entre as médias dos nas concentrações analisadas ( $F = 1,940$ ;  $gl = 7$ ;  $p > 0,05$ ).

**Tabela 6.** ANOVA fatorial de uma via completamente aleatorizada utilizando diferentes concentrações, períodos de exposição e diferentes amostras como variáveis para folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

		Soma dos Quadrados	gl	Quadrado Médio	F	Sig.
Mortalidade - 24h	Entre Grupos	1036,250	7	148,036	6,635	,000*
	Nos grupos	892,417	40	22,310		
	Total	1928,667	47			
Mortalidade - 48h	Entre Grupos	345,729	7	49,390	1,940	,088
	Nos grupos	1018,250	40	25,456		
	Total	1363,979	47			

**Fonte:** dados gerados pelo autor.

Sig: valor de  $P$  (\*A diferença média é significativa no nível  $p < 0,05$ );

gl: grau de liberdade;

$F$ : Valor de Fisher

Após verificar diferença estatística no teste entre as médias dos grupos (extratos e frações) sobre a mortalidade das larvas em um período de 24 e 48 horas, foi realizado o teste *Post Hoc* (Tukey HSD) para avaliar qual grupo difere estatisticamente do outro (grupo “I”  $\neq$  grupo “J”) (Tabela 9). No entanto, constatou-se efeito significativo nas interações, incluindo

EBEG x FHEB ( $p < 0,007$ ), EBEG x PCEJ ( $p < 0,004$ ), FHEB x EBEG ( $p < 0,007$ ), FHEB x FAEEB ( $p < 0,013$ ), FHEB x FCEG ( $p < 0,001$ ), FCEB x FCEG ( $p < 0,045$ ), FAEEB x FHEB ( $p < 0,013$ ), FAEEB x FCEJ ( $p < 0,008$ ), FCEJ x EBEG ( $p < 0,004$ ), FCEJ x FAEEB ( $p < 0,008$ ), FCEJ x FCEG ( $p < 0,000$ ), FCEG x FHEB ( $p < 0,001$ ), FCEG x FCEB ( $p < 0,045$ ) e FCEG x FCEJ ( $p < 0,00$ ) sobre a mortalidade larval (Tabela 7). No intervalo de 48 de exposição, não houve diferença significativa entre as médias dos grupos sobre as mortalidades das larvas de *Ae. albopictus*.

**Tabela 7.** Diferença estatística entre as médias dos grupos (Teste *Post Hoc* “Tukey HSD”) de extratos e frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* sobre a mortalidade das larvas de *Ae. albopictus* em um intervalo de tempo de 24 e 48 horas de exposição.

Variável dependente	(I) Group	(J) Group	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
						Limite inferior	Limite superior
Mortalidade - 24h	EBEB	EBEJ	1,41667	2,72705	,999	-7,3004	10,1337
		EBEG	5,08333	2,72705	,582	-3,6337	13,8004
		FHEB	-5,66667	2,72705	,446	-14,3837	3,0504
		FCEB	-1,33333	2,72705	1,000	-10,0504	7,3837
		FAEEB	4,50000	2,72705	,718	-4,2170	13,2170
		FCEJ	-6,16667	2,72705	,339	-14,8837	2,5504
		FCEG	7,50000	2,72705	,137	-1,2170	16,2170
	EBEJ	EBEB	-1,41667	2,72705	,999	-10,1337	7,3004
		EBEG	3,66667	2,72705	,876	-5,0504	12,3837
		FHEB	-7,08333	2,72705	,187	-15,8004	1,6337
		FCEB	-2,75000	2,72705	,970	-11,4670	5,9670
		FAEEB	3,08333	2,72705	,946	-5,6337	11,8004
		FCEJ	-7,58333	2,72705	,129	-16,3004	1,1337
		FCEG	6,08333	2,72705	,356	-2,6337	14,8004
	EBEG	EBEB	-5,08333	2,72705	,582	-13,8004	3,6337
		EBEJ	-3,66667	2,72705	,876	-12,3837	5,0504
		FHEB	-10,75000*	2,72705	,007*	-19,4670	-2,0330
		FCEB	-6,41667	2,72705	,292	-15,1337	2,3004
		FAEEB	-,58333	2,72705	1,000	-9,3004	8,1337
		FCEJ	-11,25000*	2,72705	,004*	-19,9670	-2,5330
		FCEG	2,41667	2,72705	,986	-6,3004	11,1337
	FHEB	EBEB	5,66667	2,72705	,446	-3,0504	14,3837
		EBEJ	7,08333	2,72705	,187	-1,6337	15,8004
		EBEG	10,75000*	2,72705	,007*	2,0330	19,4670

	FCEB	4,33333	2,72705	,754	-4,3837	13,0504
	FAEEB	10,16667*	2,72705	,013*	1,4496	18,8837
	FCEJ	-,50000	2,72705	1,000	-9,2170	8,2170
	FCEG	13,16667*	2,72705	,001*	4,4496	21,8837
	EBEB	1,33333	2,72705	1,000	-7,3837	10,0504
	EBEJ	2,75000	2,72705	,970	-5,9670	11,4670
	EBEG	6,41667	2,72705	,292	-2,3004	15,1337
FCEB	FHEB	-4,33333	2,72705	,754	-13,0504	4,3837
	FAEEB	5,83333	2,72705	,409	-2,8837	14,5504
	FCEJ	-4,83333	2,72705	,641	-13,5504	3,8837
	FCEG	8,83333*	2,72705	,045*	,1163	17,5504
	EBEB	-4,50000	2,72705	,718	-13,2170	4,2170
	EBEJ	-3,08333	2,72705	,946	-11,8004	5,6337
	EBEG	,58333	2,72705	1,000	-8,1337	9,3004
FAEEB	FHEB	-10,16667*	2,72705	,013*	-18,8837	-1,4496
	FCEB	-5,83333	2,72705	,409	-14,5504	2,8837
	FCEJ	-10,66667*	2,72705	,008*	-19,3837	-1,9496
	FCEG	3,00000	2,72705	,953	-5,7170	11,7170
	EBEB	6,16667	2,72705	,339	-2,5504	14,8837
	EBEJ	7,58333	2,72705	,129	-1,1337	16,3004
	EBEG	11,25000*	2,72705	,004*	2,5330	19,9670
FCEJ	FHEB	,50000	2,72705	1,000	-8,2170	9,2170
	FCEB	4,83333	2,72705	,641	-3,8837	13,5504
	FAEEB	10,66667*	2,72705	,008*	1,9496	19,3837
	FCEG	13,66667*	2,72705	,000*	4,9496	22,3837
	EBEB	-7,50000	2,72705	,137	-16,2170	1,2170
	EBEJ	-6,08333	2,72705	,356	-14,8004	2,6337
	EBEG	-2,41667	2,72705	,986	-11,1337	6,3004
FCEG	FHEB	-13,16667*	2,72705	,001*	-21,8837	-4,4496
	FCEB	-8,83333*	2,72705	,045*	-17,5504	-,1163
	FAEEB	-3,00000	2,72705	,953	-11,7170	5,7170
	FCEJ	-13,66667*	2,72705	,000*	-22,3837	-4,9496
Mortalidade - 48h	EBEJ	3,75000	2,91297	,898	-5,5613	13,0613
	EBEG	3,08333	2,91297	,962	-6,2280	12,3947
	FHEB	-1,16667	2,91297	1,000	-10,4780	8,1447
EBEB	FCEB	2,16667	2,91297	,995	-7,1447	11,4780
	FAEEB	4,66667	2,91297	,746	-4,6447	13,9780
	FCEJ	-1,50000	2,91297	1,000	-10,8113	7,8113
	FCEG	6,50000	2,91297	,356	-2,8113	15,8113
	EBEB	-3,75000	2,91297	,898	-13,0613	5,5613
EBEJ	EBEG	-,66667	2,91297	1,000	-9,9780	8,6447
	_FHEB	-4,91667	2,91297	,695	-14,2280	4,3947

	FCEB	-1,58333	2,91297	,999	-10,8947	7,7280
	FAEEB	,91667	2,91297	1,000	-8,3947	10,2280
	FCEJ	-5,25000	2,91297	,622	-14,5613	4,0613
	FCEG	2,75000	2,91297	,979	-6,5613	12,0613
	EBEB	-3,08333	2,91297	,962	-12,3947	6,2280
	EBEJ	,66667	2,91297	1,000	-8,6447	9,9780
	FHEB	-4,25000	2,91297	,824	-13,5613	5,0613
EBEG	FCEB	-,91667	2,91297	1,000	-10,2280	8,3947
	FAEEB	1,58333	2,91297	,999	-7,7280	10,8947
	FCEJ	-4,58333	2,91297	,763	-13,8947	4,7280
	FCEG	3,41667	2,91297	,935	-5,8947	12,7280
	EBEB	1,16667	2,91297	1,000	-8,1447	10,4780
	EBEJ	4,91667	2,91297	,695	-4,3947	14,2280
	EBEG	4,25000	2,91297	,824	-5,0613	13,5613
FHEB	FCEB	3,33333	2,91297	,943	-5,9780	12,6447
	FAEEB	5,83333	2,91297	,493	-3,4780	15,1447
	FCEJ	-,33333	2,91297	1,000	-9,6447	8,9780
	FCEG	7,66667	2,91297	,175	-1,6447	16,9780
	EBEB	-2,16667	2,91297	,995	-11,4780	7,1447
	EBEJ	1,58333	2,91297	,999	-7,7280	10,8947
	EBEG	,91667	2,91297	1,000	-8,3947	10,2280
FCEB	FHEB	-3,33333	2,91297	,943	-12,6447	5,9780
	FAEEB	2,50000	2,91297	,988	-6,8113	11,8113
	FCEJ	-3,66667	2,91297	,908	-12,9780	5,6447
	FCEG	4,33333	2,91297	,809	-4,9780	13,6447
	EBEB	-4,66667	2,91297	,746	-13,9780	4,6447
	EBEJ	-,91667	2,91297	1,000	-10,2280	8,3947
	EBEG	-1,58333	2,91297	,999	-10,8947	7,7280
FAEEB	FHEB	-5,83333	2,91297	,493	-15,1447	3,4780
	FCEB	-2,50000	2,91297	,988	-11,8113	6,8113
	FCEJ	-6,16667	2,91297	,422	-15,4780	3,1447
	FCEG	1,83333	2,91297	,998	-7,4780	11,1447
	EBEB	1,50000	2,91297	1,000	-7,8113	10,8113
	EBEJ	5,25000	2,91297	,622	-4,0613	14,5613
	EBEG	4,58333	2,91297	,763	-4,7280	13,8947
FCEJ	FHEB	,33333	2,91297	1,000	-8,9780	9,6447
	FCEB	3,66667	2,91297	,908	-5,6447	12,9780
	FAEEB	6,16667	2,91297	,422	-3,1447	15,4780
	FCEG	8,00000	2,91297	,138	-1,3113	17,3113
	EBEB	-6,50000	2,91297	,356	-15,8113	2,8113
FCEG	EBEJ	-2,75000	2,91297	,979	-12,0613	6,5613
	_EBEG	-3,41667	2,91297	,935	-12,7280	5,8947

FHEB	-7,66667	2,91297	,175	-16,9780	1,6447
FCEB	-4,33333	2,91297	,809	-13,6447	4,9780
FAEEB	-1,83333	2,91297	,998	-11,1447	7,4780
FCEJ	-8,00000	2,91297	,138	-17,3113	1,3113

**Fonte:** dados gerados pelo autor.

**Sig:** valor de P (\*A diferença média é significativa entre os grupos no nível  $p < 0.05$ ).

A bioatividade de inseticida à base de planta contra larvas de mosquito varia significativamente de acordo com o solvente usado na extração e a espécie de mosquito testadas (SHAALAN *et al.*, 2005). Esta é uma concordância com o presente estudo pelo qual a fração FCEJ mostrou melhor atividade larvicida contra larvas de *Ae. albopictus*, isso comparado as outras amostras analisadas. Neste estudo, vários solventes (hexano clorofórmio, acetato de etila e metanol) foram utilizados por possuírem polaridades diferentes. Tem sido relatado que existe uma relação inversa entre a eficácia do extrato e a polaridade do solvente, onde a eficácia aumenta com a diminuição da polaridade, observações feitas por Mulla & Su (1999) apud Shaalan *et al.*, (2005), que está alinhada com os presentes achados. Solventes moderadamente polares como hexano e clorofórmio foram selecionados, uma vez que eles extraem principalmente esteroides livres. Mas, os constituintes químicos extraídos usando solventes moderadamente polares também podem produzir bons resultados nos bioensaio larvicidas (GHOSH *et al.*, 2012).

Diante dos resultados obtidos dos bioensaios, para as três melhores amostras testadas, observa-se que as frações FCEJ, FHEB e FCEB, foram as mais promissoras, mostrando potencial para contribuir em programas de controle de insetos vetores de patógenos. Nesta ótica, será necessário a identificação dos constituintes químicos presentes nestas frações, assim objetivando ações direcionadas para um controle mais efetivo.

Atualmente, estratégias que inserem diversas formas de controle em um processo integrado são altamente viáveis, principalmente aquelas em que priorizem o manejo ambiental de forma racional, reduzindo os impactos negativos do uso indiscriminado de inseticidas químicos sintéticos, que podem favorecer o aparecimento de resistência em espécies de mosquitos (TADEI *et al.*, 2010; MEDEIROS *et al.*, 2013).

Neste sentido, a etapa seguinte deste estudo foi conduzida para avaliar o perfil fitoquímicos, com o intuito de identificar compostos responsáveis por essa atividade inseticida, presentes nos extratos brutos e frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

### 5.3 Prospecção Fitoquímica

A preparação dos extratos brutos e das frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* adquiriram tom esverdeado indicando a presença de taninos flavobênicos. A análise fitoquímica indicou a ausência de alguns grupos de metabólitos secundários relevantes nos extratos brutos e nas frações analisadas (Tabela 8).

**Tabela 8.** Resultado dos testes fitoquímicos dos extratos e frações *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

Constituintes Químicos	Extratos brutos e Frações							
	EBEB	EBEJ	EBEG	FHEB	FCEB	FAEEB	FCEJ	FCEG
<b>Fenóis</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Taninos</b>	+	+	+	-	-	-	-	-
<b>Flavonas</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flavonóis</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Xantonas</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flavanonóis</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Catequinas</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flavanonas</b>	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: próprio autor (2018).

- Indica resultado negativo para o teste;

+ Indica resultado positivo para o teste.

Após a realização dos testes fitoquímicos, observou-se a ausência de alguns compostos fenólicos (Flavonas, Flavonóis, Xantonas e Flavanonóis) em todas as amostras analisadas. Assim como também não foram identificados Fenóis e flavononas nas amostras analisadas. Considerando que substâncias como os compostos fenólicos podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra os riscos de muitos processos patológicos e exercem atividade antioxidante.

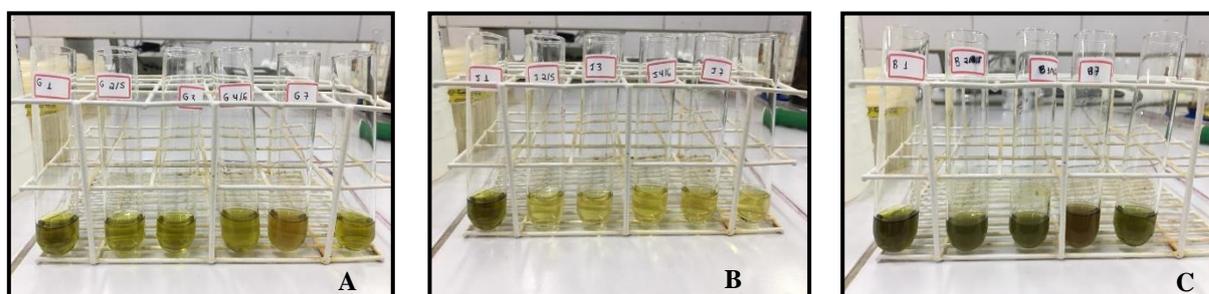
Estudos com outras espécies como, a *Hyptis capitata* (Lamiaceae), *Ambelania acida* (Apocynaceae), *Lippia sidoides* (Verbenaceae) e *Calotropis procera* (Apocynaceae) relataram a presença de flavonoides, quinonas, triterpenos, lignanas, esteroides livres e glicosilados e ácidos orgânicos, as referidas espécies tem uso comprovado na medicina popular, principalmente como antisséptico e antimicrobiano. As folhas, flores e látex constituem a parte medicinal destas plantas. Extratos e óleos essenciais possuem elevado valor comercial, tendo o

timol e o carvacrol como uns dos principais constituintes, os quais apresentam propriedades antisséptica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, hipoglicemiante e larvicida (MELO *et al.*, 2001; PASCUAL *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2002; FALCÃO *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

### 5.3.1 Teste para fenóis e taninos

Nos ensaios fitoquímicos dos extratos brutos (EBEB, EBEJ e EBEG) para a determinação de taninos, foi evidenciado mudança de coloração nas soluções, variando para verde, reação indicando a presença de taninos flavobênicos (taninos condensados ou catéquicos) (Figura 17). No entanto, não foi evidenciado alteração na coloração nos ensaios realizados com as frações. Nos ensaios para determinação de Fenóis, tanto os extratos brutos, quanto as frações não apresentam reação positiva para essa classe metabólica.

**Figura 17.** Reação qualitativa colorimétrica indicando a presença de taninos flavobênicos nos extratos brutos etanólico do Grajaú (A), Jitirana (B) e Bamburral (C) respectivamente.



Fonte: próprio autor.

A presença de taninos observado nos extratos brutos das espécies de *Hyptis*, *Ipomoea* e *Cryptostegia*, é um bom indicativo, pois é um constituinte químico comumente utilizado no tratamento de infecções gastrointestinais, como analgésicos, cicatrizante e antifúngicos (OLIVEIRA *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2006; ALBUQUERQUE, 2008; SILVA, 2008; GRASSI *et al.*, 2005). Estudos avaliaram a atividade farmacológica desse constituinte isolado do extrato metanólico das folhas de *Hyptis pectinata* (FALCÃO *et al.*, 2003), apresentando um importante efeitos analgésico, antimicrobiano e antiedematogênicos, além de reduzir à toxicidade aguda em animais de laboratório. Os resultados obtidos, Tabela 10, mostram a possibilidade da espécie *Hyptis suaveolens* apresentar as mesmas atividades

farmacológicas pois pertence ao mesmo gênero e possui os mesmos constituintes responsáveis pelas atividades registradas. Segundo Monteiro *et al.*, (2006) as espécies *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrina*, mostraram ter grande potencialidade para a indústria farmacêutica, pois os taninos, isolados das cascas de *M. urundeuva* mostraram eficiente efeito analgésico e cicatrizante, dessa forma indicando que a espécie *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora* podem apresentar esses efeitos.

### 5.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides.

As diferentes classes de compostos foram determinadas de acordo com a metodologia proposta por Matos (2009).

A partir da análise para detectar a presença desses constituintes nas amostras de extrato bruto e frações, não foi evidenciado alteração na coloração dos testes realizados, resultado na ausência antocianinas, antocianidinas e flavonoides.

Em um estudo realizado por Falcão *et al.*, (2003) com várias espécies do gênero *Hyptis*, avaliando a presença desse constituinte nas espécies estudadas, observou que entre as espécies avaliadas a *H. suaveolens* não apresentava flavonóides. Esse resultado corroborou com o descrito nesse estudo. Os flavonoides é um constituinte químico importante por apresenta várias propriedades como antioxidantes, anti-inflamatória, antibacteriana e tanante que tem um grande potencial de exploração na área cosmética (PERRUCHON, 2002). Mas, como ressalta Simões *et al* (2001) os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Sendo assim, acredita-se que a ausência e/ou presença de compostos fenólicos provavelmente sofre influência do ambiente em que a espécie foi coletada.

As flavonas e os flavonois agem como protetores químicos das células vegetais, contra os danos causados pela fotoxidação. Além disso, funcionam como sinais atrativos para insetos como abelha (FERREIRA; OLIVEIRA e SANTOS, 2008). Para Valdameri (2008) esta classe de compostos possui atividades bioquímicas e farmacológicas conhecidas, tais como efeitos antioxidantes, anticarcinogênico, anti-inflamatório, antiproliferativo, antiangiogênico e antiestrogênico. Segundo Ugaz (2001) o interesse crescente pelos compostos de xantonas é explicado devido suas propriedades farmacológicas, inibidor da monoaminaoxidase, atividade antipsicótica, efeitos da tuberculose, entre outros. Ainda segundo Corrêa (2009) as xantonas apresentam as mais variadas atividades biológicas, podendo citar a antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, antibacteriana.

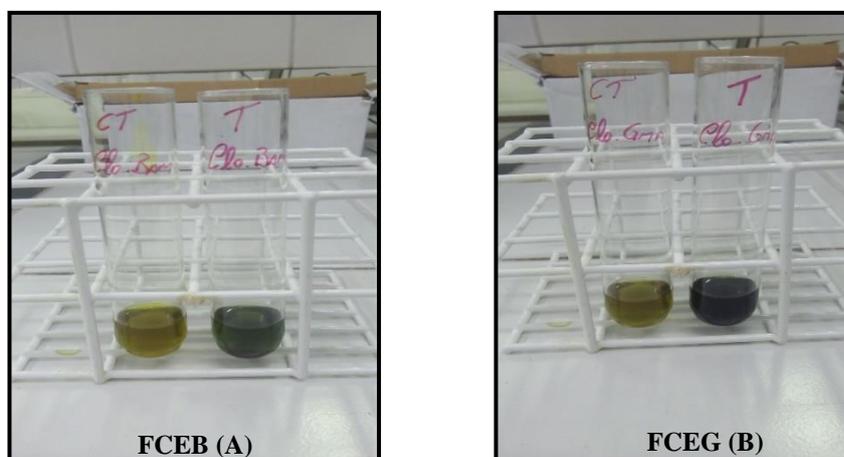
### 5.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.

Os testes foram negativos para as leucoantocianidinas, catequinas e flavonona. Os extratos brutos e frações não apresentaram coloração vermelha, pardo-amarela e/ou vermelha a laranja das respectivas classes nos ensaios realizados. Os resultados foram interpretados seguindo a metodologia descrita por Matos (2009).

### 5.3.4 Teste para esteroides e triterpenoides (Liebermann-buchard).

Os resultados dos testes para esteroides demonstraram que os três extratos brutos (EBEB, EBEJ e EBEG) e as frações (FHEB, FAEEB e FCEJ) não apresentaram uma coloração azul evanescente seguida de verde permanente, indicando reação negativa para essas amostras analisadas. No entanto, para as frações FCEB (A) e FCEG (B), os testes demonstraram positividade nas reações, indicando a presença de esteroides nessas frações analisadas (figura 18). Os extratos brutos e frações do bamburral, jiterana e grajaú apresentaram reação negativa para triterpenoides pentacíclicos livre. De acordo com Nunes (2013) os triterpenóides apresentam propriedades farmacológicas diversas, como anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, analgésicas, antibióticas, antimicóticas, imunomoduladoras, virostáticas e tónicas. Já os esteroides apresentam atividade anti-inflamatória comprovada.

**Figura 18.** Análise fitoquímica qualitativa colorimétrica indicando a presença de esteroides livres nas frações FCEB (A) e FCEG (B).



Fonte: próprio autor.

### 5.3.5 Teste para saponinas.

Os testes indicaram a ausência de saponinas em todas as amostras do extrato bruto (EBEB, EBEJ e EBEG), assim como também nas frações FCEB, FAEEB, FCEJ e FCEG tem demonstrado ausência de formação de espuma. No entanto, a fração FHEB, foi a única amostra que indicou a presença de saponina "seta" (Figura 19). Este fato não diminui o poder antioxidante das amostras que apresentaram ausência de saponinas, já que Bruneton (1991) associa as saponinas como responsáveis apenas pela atividade hemolítica, que faz parte do sistema de proteção do vegetal contra os ataques de predadores (insetos, vírus, fungos e bactérias). Simões *et al.*, (2001), acreditam que as saponinas despertam um grande interesse farmacológico, pois podem ser empregadas farmacologicamente, como expectorantes e diuréticos. Ainda são poucas as saponinas reportadas como substâncias isoladas.

**Figura 19.** Análise fitoquímica qualitativa colorimétrica indicando a presença de saponina na fração FHEB.



Fonte: próprio autor.

### 5.3.6 Teste para alcaloides

Após a realização deste teste não foi possível a observação de um precipitado sólido branco, característico, indicando a presença de alcaloides. O teste foi negativo para os três extratos bruto e cinco frações de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

A exemplo disso, extratos de *Sarcococa saligna*, planta rica em alcaloides que apresentam propriedades analgésicas e alucinógenas, tem larga aplicação médica (GILANI et al., 2005), no entanto, são propriedades que podem ser encontradas nas espécies *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*, mas não com essa classe metabólica.

### 5.4 Determinação dos fenólicos totais (FT) pelo método Folin-Ciocalteu

Os resultados obtidos na determinação dos fenólicos totais (FT) pelo método Folin-Ciocalteu, expressos com mg AG/g (onde AG representa o padrão ácido gálico), são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Teores de fenólicos totais presentes nos extratos bruto das folhas de *H. suaveolens*, *I. cairica* e *Cr. grandiflora*.

EXTRATO	FENÓLICOS	
	mg AG/g	dp
EBEB	24,52	2,02
EBEG	15,53	1,94
EBEJ	17,32	0,44

**Fonte:** dados gerados pelo autor.

O maior teor de FT foi encontrado para o extrato bruto etanólico de *H. suaveolens* (Bamburral) (24,52 mgAG/g) e difere dos outros materiais estudados. Os outros dois extratos (*Cr. grandiflora* e *I. cairica*) apresentaram teores de FT semelhantes. Rufino et al., (2010) classifica o teor de polifenóis em três categorias: baixo (< 10 mg EAG/g), médio (10 – 50 mg EAG/g) e alto (> 50 mg EAG/ g) baseadas em material vegetal seco (MVS). De acordo com essa classificação as amostras EBEB, EBEG e EBEJ apresentaram teores de polifenóis médio, sendo as duas últimas apresentando teores mais baixos. Rebelo et al., (2009) avaliaram a quantidade de compostos fenólicos totais (TP, 373,0 + 15,9 mg GAE / g) em extrato metanólico da folha de *Hyptis crenata* Pohl ex Benth, espécie de mesmo gênero da *H. suaveolens*, e confirmaram a atividade antioxidante do que pode ser atribuída à presença de compostos

fenólicos polares. A maioria dos estudos defendiam o uso de solvente não polares para a quantificação de fenólicos totais (AMER; MEHLHORN, 2006; RAHUMAN *et al.*, 2007; RAHUMAN *et al.*, 2008; RAGHAVENDRA *et al.*, 2009). Assim como, vários outros autores relataram a quantificação FT obtidos aplicando solventes moderadamente polares, como clorofórmio e metanol (GHOSH *et al.*, 2008; KAMARAJ *et al.*, 2008; PANNEERSELVAM; MURUGAN, 2013). Assim foi confirmado em estudo realizado por Samuel *et al.*, (2013) onde utilizaram solventes moderadamente polares para estimarem o teor fenólico total (30,0 mg equivalente de ácido gálico/g e 510,0 mg equivalente de quercetina/g) e a capacidade antioxidante total (16,98-94,87% de ácido ascórbico padrão em concentrações variando de 0,5 a 1 mg/ml) no extrato metanólico de folhas de *Ageratina adenophora*.

### 5.5 Determinação da atividade antioxidante pelo método do DPPH

Com relação à atividade antioxidante utilizando o método do DPPH, apresentado na tabela 10, estão expostos os resultados para as amostras EBEB, EBEG e EBEJ, na qual é possível destacar que o extrato do bamburral apresentou um maior valor de atividade antioxidante, equivalente a 166,89  $\mu\text{mol}$  quercetina/g.

**Tabela 10.** Teores de antioxidantes presentes nos extratos bruto das folhas de *H. suaveolens* (EBEB), *I. cairica* (EBEJ) e *Cr. grandiflora* (EBEG).

EXTRATO	ANTIOXIDANTE	
	$\mu\text{mol}$ quercetina/g	dp
EBEB	166,89	8,07
EBEG	107,36	3,82
EBEJ	76,12	1,04

**Fonte:** dados gerados pelo autor.

## 6. CONCLUSÃO

A atividade larvicida de extratos brutos e frações de *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea cairica* e *Cryptostegia grandiflora* contra larvas de *Ae. albopictus* tem-se mostrado bastante significativa sob condições de laboratório, fato que suscita a necessidade de se estender as investigações para as condições de campo, bem como para a identificação de seus constituintes químicos que, de fato, respondem por este efeito sobre as larvas deste culicídeo.

Já no que diz respeito à ação antioxidante, os extratos brutos mostraram-se eficientes na captura de radicais livres, o que justifica o aprofundamento das pesquisas quanto a este efeito antioxidante das amostras testadas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-FRANCH, F.; ZAMORA-PEREA, E.; FERRAZ, G.; PADILLA TORRES, S. D.; LUZ, S.L.B. Mosquito-disseminated pyriproxyfen yields high breeding-site coverage and boosts juvenile mosquito mortality at the neighborhood scale. **PLoS Negl Trop Dis.** 9(4): e 0003702. abr 2015.
- ABAGLI, A. Z.; ALAVO, T. B.; AVLESSI, F.; MOUDACHIROU, M. Potential of the Bush Mint, *Hyptis suaveolens* Essential Oil for Personal Protection Against Mosquito Biting. **J Am Mosq Control Assoc** 28:15-19. 2012.
- ABDALLAH, A. A.; BRAIN, K.; BASHIR, A. K. Screening of Sudanese plant for molluscicidal activity and identification of leave of *Tacca leontopetaloides* (L.) (Taccaceaea) as a potential new exploitable resource. **Phytother. Res.**, 4(2): 62-65, 1990.
- ACIOLE, S. D. G.; PICCOLI, C. F.; DUQUE, L. J. E.; COSTA, E. V.; NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; MAIA, B. H. L. N. S.; PINHEIRO, M. L. B.; RABELO, M. T. Insecticidal activity of three species of *Guatteria* (Annonaceae) against *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 37, n. 2, p. 262–268, 2011.
- ADEWUNMI, C. O.; SOFOWORA, E. A. Preliminary screening of some plant atracts for molluscicidal activity. **Planta Med.**, 39: 57-65, 1980.
- AGUIAR, D. B.; FONTÃO, A.; RUFINO, P.; MACEDO, V. A.; RÍOS-VELÁSQUEZ, C. M.; CASTRO, M. G.; HONÓRIO, N. A. Primeiro registro de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em Roraima, Brasil. **Acta Amazônica** 38(2): 357-360. 2008.
- AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASILIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; J. M. BARBOSA-FILHO. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy** 18:472-508. 2008.
- ALBUQUERQUE, T. M. Caracterização da Resposta Inflamatória Induzida por uma Fração Protéica do Látex de *Cryptostegia grandiflora* R. BR. Em Modelos Experimentais *In Vivo*. Tese apresentada ao Programa de **Pós-graduação em Ciências Veterinária**, UFRP, 2008.
- ALI, M. Y. S.; RAVIKUMAR, S.; BEULA, J. M. Mosquito larvicidal activity of seaweeds extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 3, p. 196–201, 2013.
- ALONSO, J. R. Estudios etnofarmacologicos del género *Ipomoea*. 1988. Disponível em: <[www.plantasmedicinales.org/](http://www.plantasmedicinales.org/)>. Acesso em: 03/10/2018.
- ALMEIDA, C.; U. P. ALBUQUERQUE. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 45:343-353. 2002.
- ALMEIDA, A. P.; BAPTISTA, S. S.; SOUSA, C. A.; NOVO, M. T.; RAMOS, H. C.; PANELLA, N. A.; GODSEY, M.; SIMÕES, M. J.; ANSELMO, M. L.; KOMAR, N.; MITCHELL, C. J.; RIBEIRO, H. Bioecology and vectorial capacity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in relation to dengue virus transmission. **Journal of Medical Entomology** 42: 419-428. 2005.
- ALVES, R.E.; BRITO, E.A.; RUFINO, M.S.M.; SAMPAIO, C.G., Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. **Acta Horticulturae**, 773: p. 299–305. 2008.

AMARILES-BARRERA, S.; GARCÍA, C. M.; PARRA-HENAO, G. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. **Revista CES Medicina**, v. 21, n. 1, p. 47–54, 2013.

AMER, A.; MEHLHORN, H. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.** 99, 466–472. 2006.

AMUSAN, A. A. S.; IDOWU, A. B.; AROWOLO, F.S. Comparative toxicity effect of bush tea leaves (*Hyptis suaveolens*) and orange peel (*Citrus sinensis*) oil extract on larvae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. **Tanz Health Res Bull** 7:174–178, 2005.

ANHOLETI, M. C.; DUPRAT, R. C.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C.; SANTOS, M. G.; GONZALEZ, M. S.; RATCLIFFE, N. A.; FEDER, D.; PAIVA, S. R.; MELLO, C. B. Biocontrol evaluation of extracts and a major component, clusianone, from *Clusia fluminensis* Planch. & Triana against *Aedes aegypti*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 110(5): 629-635, Aug. 2015.

ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K.; TANDON, M.; VASUDEVAN, P. Larvicidal and repellent actions of *Dalbergia sissoo* Roxb. (F. Legummonoseae) oil against mosquitoes. **Bioresour. Technol.**, v. 73, n. 3, 207-211. 2000.

ARAÚJO, H. R. C.; CARVALHO, D. O.; IOSHINO, R. S.; COSTA-DA-SILVA, A. L.; CAPURRO, M. L. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. **Insects**. 6(2):576–94. Jun 2015.

ASEKUN, O. T.; EKUNDAYO, O.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* leaves. **Fitoterapia** 70:440-442. 1999.

AUGUSTUS, G. D. P.S.; JAYABALAN, M.; SEILER, G. J. *Cryptostegia grandiflora* — a potential multi-use crop. **Industrial Crops and Products** 11. 59–62. 2000.

AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H. **Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens***. *Phytochemistry*, 57(5), 733-736. 2001.

AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; DE PAULA, J. R.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemical systematics and ecology**, 30(3), 205-216. 2002.

BAGBY, M. O.; BUCHANAN, R. A.; OTHEY, F. H. Multiuse crops and botanochemical production. In: KLASS, D. L. (Ed.), *Biomass as a Nonfossil Fuel Source*, **ACS Symposium Series** No. 144, ACS, Washington, DC, pp. 125-136, 1981

BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**, v. 71, p. 1471-1485, 2015.

BALESTRA, R. A.; PEREIRA, R. K.; RIBEIRO, M. J.; SILVA, J. S.; ALENCAR, J. Ocorrência de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) em área urbana do Estado do Tocantins. **Neotropical Entomology** 37(2): 233-235. 2008.

BARBOSA, A. S.; SOUSA, E. G.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, H. S. M. C.; MEDEIROS, M.B. (2007). Plantas medicinais: aspectos do uso de fitoterápicos na melhoria da qualidade de vida humana. In **X ENCONTRO DE INICIAÇÃO À DOCÊNCIA**, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 2007. Anais...Paraíba: Universidade Federal da Paraíba, 2007.

- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 62-73. 2006.
- BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. F.; ROCHA, E. A.; LEAL, C. K. A.; ABRANTES, H. F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 4, p. 518-525, 2006.
- BEDINI, S.; FLAMINI, G.; COSCI, F.; ASCRIZZI, R.; BENELLI, G.; CONTI, B. *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus* essential oils as novel control tools against the invasive mosquito *Aedes albopictus* and fresh water snail *Physella acuta*. **Ind Crops Prod.** Jul; 85:318–323. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.008>, 2016.
- BENEDICT, M. Q.; LEVINE, R. S.; HAWLEY, W. A.; LOUNIBOS, L. P. Spread of the tiger: global risk of invasion by mosquito *Aedes albopictus*. **Vector borne and Zoonotic diseases** 7: 76-85, 2007.
- BENELLI, G.; FLAMINI, G.; FIORE, G.; CIONI, P. L.; CONTI, B. Larvicidal and repelente activity of the essential oil of *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) fruits against the filariasis vector *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** 2013 Mar; 112(3):1155– 1161. doi: 10.1007/s00436-012-3246-6.
- BLACK, W. C. T. et al. Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*. **Archives of medical research**, Mexico, v. 33, n. 4, p. 379-388, Jul./Aug. 2002.
- BORGES, S. M. A. A. Importância epidemiológica do *Aedes albopictus* nas Américas. Dissertação de Mestrado, **faculdade de Saúde Pública da USP**, são Paulo, 2001.
- BORDIGNON, S. A. L. O Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) no Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado, Instituto de Biociências, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Rio Grande do Sul. 1990.
- BONILAURI, P.; BELLINI, R.; CALZOLARI, M.; ANGELINI, R.; VENTURI, L.; FALLACARA, F.; CORDIOLI, P.; ANGELINI, P.; VENTURELLI, C.; MERIALDI, G.; DOTTORI, M. Chikungunya virus in *Aedes albopictus*, Italy. **Emerging Infectious Diseases.** 14(5): 852-853. 2008.
- BONOLI, M.; VERARDO, V., MARCONI, E.; CABONI, M.F., Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: p.5195–5200. 2004.
- BLASER, H. W. Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with Special Reference to the latex system. **Am. J. Bot.**, 32(3):135-141, 1945.
- BRAGA, I. A. et al. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2004.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde.** 16: 279-293. 2007a.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde.** 16: 295-302. 2007b.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiol Serv Saude**. Abrjun, 16(2):113–8. 2007c.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, 28: p. 25-30. 1995.

BRASIL. **Controle de Vetores: Procedimento de Segurança**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde: **Fundação Nacional de Saúde (FUNASA)**, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Reunião técnica para discussão do status de resistência de *Aedes aegypti* e definir estratégias a serem implantadas para monitoramento da resistência no Brasil**. Brasília, DF, 1999.

\_\_\_\_\_. **Reunião técnica para a discussão do status de resistência de *Aedes aegypti* e definir estratégias a serem implantadas para monitoramento da resistência no Brasil**. Brasília, DF, 2000.

\_\_\_\_\_. **Monitoramento da Resistência das Populações de *Aedes aegypti* do País**. Brasília, DF, 2003.

\_\_\_\_\_. **Reunião técnica para a discussão do status de resistência de *Aedes aegypti* e definir estratégias a serem implantadas para monitoramento da resistência no Brasil** - Relatório final. Brasília, DF, 2005.

\_\_\_\_\_. **Reunião de avaliação do monitoramento da resistência das populações de *Aedes aegypti* do Brasil**. Brasília, DF, 2009a.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. **Brasília: Ministério da Saúde**; (Série A. Normas e Manuais Técnicos.), 2009b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE; Fundação Nacional de Saúde. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). **Brasília: Ministério da Saúde**; 32 p. 2002.

BRITO, M.; MARQUES, G. R. A. M.; MARQUES, C. C. A.; TUBAKI, R. Primeiro encontro de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) no Estado de São Paulo (Brasil). **Rev. Saúde Pública**, 20(6): 489, 1986.

BRUNETON, J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. **1.ed. Espanha: Editorial Acribia, S.A.**, p.594. 1991.

BULL, J.J; TURELLI, M. Wolbachia versus dengue: evolutionary forecasts. **Evol Med Public Health**. (1):197–207, 2013.

CABRAL, S. S. Atividade larvicida do extrato bruto de *Swinglea glutinosa* evidenciada pelas alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (diptera, culicidae). [Dissertação] **Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro (UFG)**. Goiânia, Brasil. 2015.

CARMO, E. S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L. The potential of *Origanum vulgare* l. (lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related aspergillus species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n.2, p. 362-367, June 2008.

CARVALHO, D. O; COSTA-DA-SILVA, A. L.; LEES, R. S.; CAPURRO, M. L. Two step male release strategy using transgenic mosquito lines to control transmission of vector-borne diseases. **Acta Trop**. 132 Suppl: S170–7. Abr 2014.

CARVALHO, D. O.; MCKEMEY, A. R.; GARZIERA, L.; LACROIX, R.; DONNELLY, C. A.; ALPHEY, L. et al. Suppression of a field population of *Aedes aegypti* in Brazil by sustained release of transgenic male mosquitoes. **PLoS Negl Trop Dis.** 9(7):e0003864. Jul 2015.

CARVALHO, R. G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; BRAGA, I. A. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 109(6): 787-796, Sept 2014.

CASTRO, A. P. C. R.; LIMA, R. A.; NASCIMENTO, J. S. Chikungunya: vision of the pain clinician. **Rev. Dor. São Paulo**, 17(4):299-302, out-dez, 2016.

CAVALCANTI, L. P. G.; PONTES, R. J. S.; REGAZZI, A. C. F.; PAULA JÚNIOR, F. J.; FRUTUOSO, R. S.; SOUSA, E.P.; FILHO, F.F.D; LIMA, J.W.O. Competência de peixes como predadores de larvas de *Aedes aegypti*, em condições de laboratório. **Rev Saúde Pública.** 41(4):638-44, 2007.

CAVALCANTI, L. P. A. N.; AGUIAR, A. P.; LIMA, J. A.; LIMA, A. L. S. Intoxicação por Organofosforados: Tratamento e Metodologias Analíticas Empregadas na Avaliação da Reativação e Inibição da Acetilcolinesterase. **Rev. Virtual Quim.** v. 8(3), 739-766, 2016.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION (CSIRO), **Rubbervine.** ♦ Copyright. 1999 - 2000, CSIRO Australia. 2001.

CONTI, B.; CANALE, A.; BERTOLI, A.; GOZZINI, F.; PISTELLI, L. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.**; 107(6):1455–1461. doi: 10.1007/s00436-010-2018-4, 2010.

CONTI, B.; BENELLI, G.; FLAMINI, G.; CIONI, P. L.; PROFETI, R.; CECCARINI, L.; et al. Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** May; 110(5): 2013– 2021. doi: 10.1007/s00436-011-2730-8, 2012.

CONTI, B.; LEONARDI, M.; PISTELLI, L.; PROFETI, R.; OUEGHEMMI, I.; BENELLI G. Larvicidal and repellent activity of essential oils from wild and cultivated *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) against *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae), an arbovirus vector. **Parasitol Res.** Mar; 112(3):991–999. doi: 10.1007/s00436-012-3221-2, 2013.

CHAKKARAVARTHY, V. M.; AMBROSE, T.; VINCENT, S.; ARUNACHALAM, R.; PAULRAJ, M. G.; IGNACIMUTHU, S.; et al. Bioefficacy of *Azadirachta indica* (A. Juss) and *Datura metel* (Linn.) leaves extracts in controlling *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **J Entomol**, 8, pp. 191-197, 2011.

CHAVASSE, D. C.; YAP, H. H. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneva: **OMS**, (WHO/CTD/WHOPES/97.2). 1997.

CHENG, S-S.; HUANG, C-G.; CHEN, Y-J.; YU, J-J.; CHEN, W-J.; CHANG, S-T. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 452–456, 2009.

CHENG, S. S.; LIU, J. Y.; HUANG, C. G.; HSUI, Y. R.; CHEN, W. J.; CHANG, S. T. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. **Bioresour Technol.** Jan; 100(1):457–464. doi: 10.1016/j.biortech.2008.02.030, 2009.

CHO-MINKYUNG, et al. Arctigenin, a phenylpropanoid dibenzylbutyrolactone lignan,

- inhibits MAP kinases and AP-1 activation via potent MKK inhibition: the role in TNF $\alpha$  inhibition. **International Immunopharmacology**. v.10/11, n.1419-29, 2004.
- CLEMENTS, A. N. The biology of mosquitos: viral and bacterial pathogens and bacterial symbionts, London: **Chapman & Hall**, vol. 3. 2012.
- COELHO, G.E. Dengue: desafios atuais. **Epidemiol Serv Saude**. jul-set;17(3):231–3. 2008.
- CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: **Fiocruz**. 1994, 228 p.
- CONTI, B. et al. *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Dryophthoridae). **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 84, p. 219-228, 2011.
- CONTI, B.; BENELLI, G.; FLAMINI, G.; CIONI, P. L.; PROFETI, R.; CECCARINI, L.; MACCHIA, M.; CANALE, A. Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitol Research**. 110:2013-2021. 2012.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.500-506, 2011.
- COSTA, A. R.; SANTANA, C. M.; SILVA, V. L.; PINHEIRO, J. A. F.; MARQUES, M. M. M.; FERREIRA, P. M. P. Análise do controle vetorial da dengue no sertão piauiense entre 2007 e 2011. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, 24 (3): 275-281, 2012.
- COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGELICO, E. C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15(4): 304-309, out. /dez. 2005.
- COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R.; **Rev. Bras. Farmacogn.**12, 66, 2002.
- CHUKWUJEKWU, J. C. et al. Antiplasmodial diterpenoid from the leaves of *Hyptis suaveolens*. **Journal of Ethnopharmacology**, Laussane, v.102, p.295-297, 2005.
- DA SILVA, V. C. et al. Diversidade de criadouros e tipos de imóveis freqüentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. **Revista de Saude Publica**, v. 40, n. 6, p. 1106–1111, 2006.
- COOK, D. R.; CAMPBELL, G. W.; MELDRUM, A. R. Suspected *Cryptostegia grandiflora* (ruber vine) poisoning in horses. **Austr. Veter. J.**, 67: 344, 1990.
- CHOUX, M. P. Catalogue des Plantes de Madagascar. Asclepiadaceae. **Antananarivo**, 1931.
- CORRÊA, R. S. Xantonas Oxigenadas Bioativas: cristalização, estrutura e suas interações intra e intermoleculares. **Dissertação de Mestrado em Ciências**, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil. (2009).
- DHAWAN, B. N.; PATNAIK, G. K.; RASTOGI, R. P.; SIGH, K. K.; TANDON, J. S. Sreenin of Indian plants for biological activity: Part VI. Indian. **J. Exp. Biol.**, 15: 208-219. 1977.
- DEVINE, G. J.; PEREA, E. Z.; KILLEEN, G. F.; STANCIL, J. D.; CLARK, S. J.; MORRISON, A. C. Using adult mosquitoes to transfer insecticides to *Aedes aegypti* larval habitats. **Proc Natl Acad Sci**. 106(28):11530–4. jul, 2009.

DIAS, J.C.P; NETO, V.A; LUNA, E.J.A. Mecanismos alternativos de transmissão do *trypanosoma cruzi* no brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44 (3):375-379, mai-jun, 2011.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: Review. **Parasitol Res.** 2014 Feb; 113(2): 565–592. doi: 10.1007/s00436-013-3687-6.

DIENG, H.; SAIFUR, R.; HASSAN, A.; CHE SALMAH, M.; BOOTS, M.; SATHO, T.; JAAL, Z.; ABUBAKAR, S. Indoor-breeding of *Aedes albopictus* in northern peninsular Malaysia and its potenciais epidemiological implications. **PLoS One** 5(7):e11790.doi:101371/ journal. pone.0011790, 2010.

DOAK, A.; DEVEZE, M., MARCH, N.; OSMOND, R.; MCKENZIE. Ruber vine Management: control Methods and case studies. The State of Queensland (**Department of Natural Resouces, Mines and Energy**), 2004

DONALÍSIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUNBEN, A. P. V. B. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Ver. Saúde Pública.** 51:30, 2017.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Rev. Bras. Epidemiol.** 5, nº3, 2002.

EFFLER, P. V.; PANG, L.; KITSUTANI, P.; VORNDAM, V.; NAKATA, M.; AYERS, T.; ELM, J.; TOM, T.; REITER, P.; RIGAU-PEREZ, J. G.; HAYES, J. M.; MILLS, K.; NAPIER, M.; CLARK, G. G.; GLARK, D. J. Dengue fever, Hawaii, 2001–2002. **Emerging of Infectious Diseases** 11: 742-749. 2002

ELDRIDGE, B.F; EDMAN, J.D. Medical Entomology. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers**, 2000.

FALCÃO, D. C.; MENEZES, F. S. **Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero Hyptis.** Revista Brasileira de Farmácia, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 69-74, maio/jun. 2003.

FARNESI, L.C. Avaliação do efeito do novaluron, um inibidor da síntese de quitina sobre a formação de larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). Mestrado em Biologia Molecular e Celular (Dissertação) - **Instituto Oswaldo Cruz (IOC-FIOCRUZ)**. 2009.

FERNÁNDEZ, L.D; PINEDA, C.C; FRANCOIS, L.A. *Aedes* (St.) *aegypti*: relevância entomoepidemiológica y estratégias para su control. **AMC**, 22: 610-625, 2011.

FERREIRA, A.A.; OLIVEIRA, P.M.; EVANGELISTA, E.A.; ALVES, R.B.; PIZZIOLLO, V.R.; BRASILEIRO, B.G.; RODRIGUES, F.M.O.; SILVEIRA, D.; RASLAN, D.S. Atividades biológicas das partes aéreas de *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.2, p.14-18, 2006a.

FERREIRA, A. A.; AMARAL, F. A.; DUARTE, I. D. G.; OLIVEIRA, P. M.; ALVES, R. B.; SILVEIRA, D.; AZEVEDO, A. O.; RASLAN, D. S.; CASTRO, M. S. A. Efeito antinociceptivo do extrato de *Ipomoea cairica*. **Journal of Ethnopharmacology** 105 148–153. 2006b.

FERREIRA, M. M. M.; OLIVEIRA, A. H. C.; SANTOS, N. S. Flavonas e Flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agroambiente On-line** (2), 4, 57-60. 2008.

- FIGUEIREDO, L. T. M. Patogenia das infecções pelo vírus do dengue, **Medicina, Ribeirão Preto**, 32: 15-20. Jan. /mar.1999.
- FIGUEIREDO, M. L.; GOMES, A. C.; AMARILLA A.A; LEANDRO A.S; ORRICO A.S; ARAUJO R.F; CASTRO J.S; DURIGON E.L; AQUINO V.H; FIGUEIREDO L.T. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. **Virology Journal** 7: 152. 2010.
- FIGUEIRÓ, A. C.; SÓTER, A. P.; BRAGA, C.; HARTZ, Z. M. A.; SAMICO, I. Análise da lógica de intervenção do Programa Nacional de Controle da Dengue. **Rev Bras Saude Matern Infant**.10 Supl 1:S93–106. Nov. 2010
- FINKLER, C.L.L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 8 e 9, p.169-189, 2011/2012.
- FORATTINI, O. P. Entomologia Médica. São Paulo: **EDUSP**, 1962.
- FORATTINI, O.P. Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil. **Revista de Saúde Pública**. 20:244-5, 1986.
- FORATTINI, O.P. Culicidologia Médica. **EdUSP**, São Paulo, v.2, 860p. 2002.
- FLORES, F.S. et al. Vertical Transmission of St. Louis Encephalitis Virus in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Cordoba, Argentina. **Vector Borne Zoonotic Dis**, 2010.
- FRANCINE, T. N.; CABRAL, B. N. P.; ANATOLE, P. C.; BRUNO, M. M.; PAULINE, N.; JEANNE, N. Y. Larvicidal activities of hydro-ethanolic extracts of three Cameroonian medicinal plants against *Aedes albopictus*. **Asian Pac J Trop Biomed**. 6(11):931–936. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.09.004>. Nov. 2016.
- FRANCO, I.J.; FONTANA, V.L. Ervas & plantas: a medicina dos simples. Erechim: **Livraria Vida**, 177p. 1997.
- FURTADO, R.F; LIMA, M.G.A; NETO, M.A; BEZERRA, J.N.S; SILVA, M.G.V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Díptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843–847, 2005.
- GARCEZ, W.S; GARCEZ, F.R; SILVA, L.M.G. E; SARMENTO, U.C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.
- GEMEDA, N.; MOKONNEN, W.; LEMMA, H.; TADELE, A.; URGA, K.; ADDIS, G.; et al. Insecticidal activity of some traditionally used Ethiopian medicinal plants against sheep ked *Melophagus ovinus*. **J Parasitol Res**, 978537, 2014.
- GIATROPOULOS, A.; PAPACHRISTOS, D. P.; KIMBARIS, A.; KOLIOPOULOS, G.; POLISSIOU, M. G.; EMMANOUEL, N.; MICHAELAKIS, A. Evaluation of bioefficacy of three Citrus essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. **Parasitol Res**. Dec; 111(6):2253– 2263. doi: 10.1007/s00436-012-3074-8. 2012.
- GIATROPOULOS, A.; PITAROKILI, D.; PAPAIOANNOU, F.; PAPACHRISTOS, D. P.; KOLIOPOULOS, G.; EMMANOUEL, N.; et al. Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res**. 112(3):1113–1123. doi: 10.1007/s00436-012-3239-5. Mar, 2013.

GHOSH, A.; CHOWDHURY, N.; CHANDRA, G. Laboratory evaluation of a phytosteroid compound of mature leaves of day jasmine (Solanaceae: Solanales) against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and nontarget organisms. **Parasitol. Res.** 103, 221–277. 2008.

GHOSH, A.; CHOWDHURY, N.; CHANDRA, G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian Journal of Medical Research**, v. 135, n. 5, p. 581–598, 2012.

GOMES, A.C; TORRES, M.A; GUTIERREZ, M.F; LEMOS, F.L; LIMA, M.L; MARTINS, J.F; COSTA, Z.G. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizoóticas de febre amarela das Regiões Sudeste e Sul do Brasil (Diptera: Culicidae). **Epidemiologia e Serviços de Saúde** 17(1): 71-76. 2008.

GOMES, A.S.; SCIAVICO, C.J.S.; EIRAS, A.E. Periodicidade de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em laboratório e campo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 39 (4): 327-332. 2006.

GOMES, P.R.B; SILVA, A.L.S; CARVALHO, L.L; LIMA, H.S; SILVA, E.F; SILVA, R.P; LORENZO, C.H; OLIVEIRA, M.B; FILHO, V.E.M. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gingibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 597–604, 2016.

GOVINDARAJAN, M. Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Burm. F. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. **Asian Pac J Trop Med.** 3(9): 691–695. doi: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60167-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60167-8). 2010.

GOVINDARAJAN, M. Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm. f. (Family:Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera:Culicidae). **Asian Pac J of Trop Med.**; 4(3):176–181. doi: 10.1016/S1995-7645(11)60064-3. Mar, 2011.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; RAJESWARY, M.; VEERAKUMAR, K. Mosquito larvicidal activity of thymol from essential oil of *Coleus aromaticus* Benth. against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus*, and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** 112(11):3713–3721. doi: 10.1007/s00436-013-3557-2. Nov. 2013a.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; RAJESWARY, M.; YOGALAKSHMI, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). **Exp Parasitol.** 134(1): 7–11. doi: 10.1016/j.exppara.2013.01.018. May. 2013b

GHOSH A, CHOWDHURY N, CHANDRA G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian J Med Res.** 135(5) :581–598. PubMed PMID: 22771587. May. 2012

GHAFFARI, H.; GHASSAM, B.J.; PRAKASH, H. S. Hepatoprotective and cytoprotective properties of *Hyptis suaveolens* against oxidative stress-induced damage by CCl<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Asian Pac J Tropi Med** 5(11):868–874, 2012.

GILANI, A. H.; GHAY UR, M. N.; KHALID, A.; HAQ, Z.; CHOUDHARY, M. I.; RHAMAN, A. Pre-sence of antipasmotic, antidiarrheal, antisecretory, calcium antagonist and acetylcholines-terase inhibitory steroidal alkaloids. in **Sarcococca saligna**, 2005.

GRASSI, P., NUNEZ, M. J., VARMUZA, K. & FRANZ, C. Chemical polymorphism of essential oils of *Hyptis suaveolens* from El Salvador. **Flavour and Fragrance Journal** 20:131- 135. 2005.

- GRATZ, N. G. Critical Review of the vector status of *Aedes albopictus*. **Medical and veterinary Entomology** 18: 215-227. 2004.
- GRICE, A. C. Seed production, dispersal and germination in *Cryptostegia grandiflora* and *Ziziphus mauritiana*, two invasive shrubs in tropical woodlands of northern Australia. *Australian Journal of Ecology*, 21(3), 324-331, 1996.
- GUEDES, D.R.D. Análise da competência vetorial para o vírus Dengue em populações naturais de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* de Pernambuco. Curso de Doutorado em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães–CPqAM da Fundação Oswaldo Cruz- FIOCRUZ/MS (TESE), Pernambuco, 2012.
- HARRIS, A.F; MCKEMEY, A.R; NIMMO, D; CURTIS, Z; BLACK, I; MORGAN, S.A; et al. Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes. **Nat Biotechnol.** 30(9):828–30. Set 2012.
- HAY, R. K. M.; SVOBODA, K. P. Botany. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. Volatile oil crops.: their biology, biochemistry and production. **Essex: Longman**, p. 5, 1993.
- HERRERA, O.; MAJOR, I. Visitantes Perigosos no Nordeste – Brasil Tropical. **Ciência Hoje**, 38: 42-44, 2006.
- HIGGS, S; BEATY, B.J. Natural cycles of vector-borne pathogens. In: MARQUARDT, W. C. (2ª Ed.). *Biology of disease vectors*. **Burlington: Elsevier Academic Press**, 2004.
- HOTTA, S. Dengue vector mosquitoes in Japan: the role of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the 1942-1944 dengue epidemics of Japanese Main Islands. **Medical Entomology and Zoology** 49: 276-284. 1998.
- HUTCHINSON, J. The families of flowering plants, 3rd Edition. **The Clarendon Press**, Oxford, p. 472. 1973.
- IKAWA, M.; SCHAPER, T. D.; DOLLARD, C. A.; SASNER, J.J., Utilization of Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: p. 1811-1815. 2003.
- ISHAK, A. R.; DOM, N. C.; HUSSAIN, H.; SABRI, N. H. Biolarvacidal Potential of *Ipomoea Cairica* Extracts Against Key Dengue Vectors. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**. 153, 180 – 188. 2014.
- ISMAN MB. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45–66, 2006.
- JANG, Y.P. et al. Arctigenin protects cultured cortical neurons from glutamate-induced neurodegeneration by binding to kainate receptor. **Journal of Neuroscience Research**, v.68, n.2, p.233-40, 2002.
- JAYA, PRAKASH, B.; DUBEY, N. K. Evaluation of chemically characterized essential oils of *Coleus aromaticus*, *Hyptis suaveolens* and *Ageratum conyzoides* against storage fungi and aflatoxin contamination of food commodities. **Int J Food Sci Technol** 46:754–760, 2011.
- JAN, M. T.; ABBAS, N.; SHAD, S. A.; SALEEM, M. A. Resistance to organophosphate, pyrethroid and biorational insecticides in populations of spotted bollworm, *Earias vittella* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), in Pakistan. **Crop Protection**, v. 78, p. 247-252, 2015.

JANTAN, I.B; YALVEMA, M.F; AHMAD, N.W; JAMAL, J.A. Insecticidal activities of the leaf oils of eight *Cinnamomum* species against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 6, p. 526–532, 2005.

JENKINS, D. W. *Cryptostegia* as an emergency source of rubber. **United States board of Economic Warfare**, Washington, DC, 1944.

JIRAKANJANAKIT, N; RONGNOPARUT, P; SAENGTHARATIP, S; CHAREONVIRIYAPHAP, T; DUCHON, S; BELLEC, C; YOKSAN, S. Insecticide Susceptible/Resistance Status in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* and *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera: Culicidae) in Thailand During 2003 – 2005. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 2, p. 545–550, 2007.

JOY, B., M. OMANAKUTTY, M. MATHEW. Antibacterial Effects and Chemical Composition of the Essential Oil of *Hyptis suaveolens* Poit Leaves. **Journal of Essential Oil Bearing Plants** 11:384-390. 2008.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. Plant Systematics. A phylogenetic approach. In: **Sinauer Associates Inc.**, p.383-5. 1999.

JUMELLE, H. Sur quelques plantes utiles ou intéressantes du nord-ouest de Madagascar. **Ann. Mus. Collon. Marseille**, 2(5): 347-361, 1907.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A.; BAGAVAN, A. Antifeedant and larvicidal effects of plant extracts against *Spodoptera litura* (F.), *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say. **Parasitol. Res.** 103 (2), 325–531. 2008.

KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. 5th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

KNUDSEN, A.B. Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. **Parasitologia**. 37: 91-97, 1995.

KONNO, K.; HIRAYAMURA, C.; TATEISHI, K.; TAMURA, Y.; HATTORI, M. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteinases in latex. **Plant J** 37:370-378.2004.

KIRITIKAR, K. R.; BUSU, B. D. Indian medicinal plants, dhradam: **International Books Distributors**, ed, v.1-4, 1987.

KOUTSAVITI, K.; GIATROPOULOS, A.; PITAROKILI, D.; PAPACHRISTOS, D.; MICHAELAKIS, A.; TZAKOU, O. Greek *Pinus* essential oils: larvicidal activity and repellency against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** 114(2):583–592. doi: 10.1007/s00436-014-4220-2. Feb. 2015.

KOLLI, G. R.; BALAKRISHNAN, VIJAYAN, SUNDARARAJAN R. Evaluation of larvicidal activity of *Pongamia pinnata* extracts against three mosquito vectors. **Asian Pac J Trop Biomed.** 3(11):853–858. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60168-9. Nov. 2013

LACON, G; MORRISON, A.C; ASTETE, H; STODDARD, S.T; PAZSOLDAN, V.A; ELDER, J.P; ET AL. Shifting patterns of *Aedes aegypti* fine scale spatial clustering in Iquitos, Peru. **PLoS Negl Trop Dis.** ago;8(8):e3038. 2014.

LAMBRECHTS, L; SCOTT, T.W; GUBLER, D.J. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. **PLoS Neglected Tropical Disease**, 45(5): e646. 2010.

- LEITE G.L.D. Entomologia Básica. Instituto de Ciências Agrárias: **Universidade Federal de Minas Gerais** (ICA/UFMG), 2011.
- LI, W.; HUANG, C.; WANG, K.; FU, J.; CHENG, D.; ZHANG, Z. Laboratory evaluation of aqueous leaf extract of *Tephrosia vogelii* against larvae of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and non-target aquatic organisms. **Acta Trop.** 146: 36–41. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.02.004. Jun. 2015.
- LIMA, O. O. A.; BRAZ-FILHO, R. Dibenzylbutyrolactones lignans and coumarins from *Ipomoea cairica*, **Journal of Brazillian Chemical Society**, v.8, p.235-8, 1997.
- LIMA, E. P. et al. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceara, Brazil. **Parasite and Vectors**, London, v. 4, p. 5, 2011.
- LIMA-CAMARA, T.N; URBINATTI, P.R; CHIARAVALLLOTI-NETO, F. Encontro de *Aedes aegypti* em criadouro natural de área urbana, São Paulo, SP, Brasil. **Rev Saúde Pública.** 50:3, 2016.
- LIMA, E.P; GOULART, M.O.F; ROLIM NETO, M.L. Meta-analysis of studies on chemical, physical and biological agents in the control of *Aedes aegypti*. **BMC Public Health.**15:858. Dez, 2015.
- LIU, Z. L.; HE, Q.; CHU, S. S.; WANG, C. F.; DU, S. S.; DENG, Z. W. Essential oil composition and larvicidal activity of *Saussurea lappa* roots against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** 110(6): 2125–2130. doi: 10.1007/s00436-011- 2738-0. Jun. 2012.
- LIU, X. C.; DONG, H. W.; ZHOU, L.; DU, S. S.; LIU, Z. L. Essential oil composition and larvicidal activity of *Toddalia asiatica* roots against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.** 112(3):1197–1203. doi: 10.1007/s00436-012-3251-9. Mar. 2013.
- LIU, X. C.; LIU, Q.; ZHOU, L.; LIU, Z. L. Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Allium macrostemon* Bunge and its selected major constituent compounds against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasit Vectors.** 7: 184-188. doi: 10.1186/1756-3305-7-184. 2014.
- LUCIA, A. L.; LICASTRO, S.; ZERBA, E.; MASUH, H. Yield, chemical composition, and bioactivity of essential oils from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. **Entomol Exp App.** 129(1): 107–114. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00757.x> Sep. 2008.
- LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-PTA – **Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa**, 2011.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. **Nova Odessa: Plantarum**, 2. ed. p. 1088. 1999.
- LOUISE, N.; II, C. Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos Cumulative mortality of *Aedes aegypti* larvae treated with compounds. **Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 445–450, 2014.
- LOURENÇO, A. F.; RODRIGUES, F. M. Diseases Transmitted by the *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762) in Brazil in the Last Ten Years. **EVS, Goiânia**, v. 44, 72-77, 2017.
- LUZ, K.G.; SANTOS, G.I.V.; VIEIRA, R.M. **Febre pelo vírus Zika**. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, 24(4):785-788, out-dez, 2015.

- MACHADO, B.F.M.T.; JUNIOR, A.F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cad. acad.**, Tubarão, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.
- MACIEL, M.V; MORAIS, S.M; BEVILAQUA, C.M.L; AMÓRA, S.S.A. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Ver. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, c.1, p.105-112, 2010.
- MANDAL, S. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. **Asian Pac J Trop Med.**; 3(8):605–609. doi: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60147-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60147-2). Aug. 2010.
- MCNEIL, M., P. FACEY; R. PORTER. 2011. Essential Oils from the Hyptis genus- A Review (1909-2009). **Natural Product Communications** 6:1775-1796.
- MARANGONI, C; MOURA, N.F; GARCIA, F.R.M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos, **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.6, n.2, p. 95 a 112, 2012.
- MACORIS, M. L. G.; CAMARGO, M. F.; SILVA, I. G.; TAKAKU, L.; ANDRIGHETTI, M. T. Modificação da Susceptibilidade de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* ao Temephos. **Revista de Patologia Tropical** 24: 31–40. 1995.
- MARQUARDT, W. C. Biology of disease vectors. Academic press (st), 2nd. ed. 2004.
- MARTINS, V.E.P; SILVEIRA, D.A; CAVALCANTE R, I.L; FLORINDO G, M.I *Aedes albopictus* no Brasil: aspectos ecológicos e riscos de transmissão da dengue, **Entomotopica** 28(2): 75-86. ago/aug, 2013.
- MARTINS V.E; ALENCAR C.H; KAMIMURA M.T; DE CARVALHO A.F.M; DE SIMONE S.G; DUTRA R.F; GUEDES M.I. Occurrence of Natural Vertical Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. **PLoS One** 7(7): e41386. 2012.
- MARTINS, V. E.; ALENCAR, C. H.; FACÓ, P. E.; DUTRA, R. F.; ALVES, C. R.; PONTES, R. J.; GUEDES, M. I. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 43(1):73-77, 2010.
- MARTINS, F. T.; SANTOS, M. H.; POLO, M. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. **Química nova**. São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1203- 1209, 2006.
- MASSONNET-BRUNEEL, B; CORRE-CATELIN, N; LACROIX, R; LEES, R.S; HOANG, K.P; NIMMO, D. Fitness of transgenic mosquito *Aedes aegypti* males carrying a dominant lethal genetic system. **PLoS One**. 8(5): e 62711. maio 2013.
- MATHEW, J.; THOPPIL, J. E. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. **Pharm Biol.**; 49(5):456–463. doi: 10.3109/13880209.2010.523427. May. 2011.
- MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. 3.ed, **Edições, UFC**, p.150.2009.
- MCMENIMAN, C.J; LANE, R.V; CASS, B.N; FONG, A.W; SIDHU, M; WANG, Y.F; et al. Stable introduction of a life-shortening Wolbachia infection into the mosquito *Aedes aegypti*. **Science**. 323(5910):141–4, jan, 2009.

MEDEIROS, E. S, RODRIGUES, I. B, ABREU, E. L, PINTO, A. C. S, NDERLI P. TADEI, W.P, Larvicidal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) extracts and eugenol against *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi* **African Journal of Biotechnology** Vol. 12(8), pp. 836-840, 20, 2013.

MELO, M. M. ; VAZ, F. A. ; GONÇALVES, L. C. ; SATURNINO, H. M. Phitochemical study of the *Calotropis procera* Ait., in goats feeding: clinical effects and biochemical parameter. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** 2(1):15 - 20, 2001.

MELO-SANTOS, M. A. et al. Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. **Acta Tropica**, Basel, v. 113, n. 2, p. 180-189, 2010.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 3, p.391-397, 2010.

MESSIAS, M.C. Vivendo com os insetos. Rio de Janeiro, RJ: Biomanguinhos/FIOCRUZ, 120p. 2011.

METHA, H.; DOSHI, A.; CHOUDHARI, P.; BOKIL, K.; RAO, S. Liquid Fuels From Laticiferous plants. **Ind. J. Technol.**, 20: 454-456, 1982.

MISHRA SB, VERMA A, MUKERJEE A, VIJAYAKUMAR M. Anti-hyperglycemic activity of leaves extract of *Hyptis suaveolens* L. Poit in streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pac J Trop Med**; 4(9): 689-93. 2011.

MOORE, C. G.; MITCHELL, C. J. *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. **Emerg Infect Dis.** 3:329-34, 1997.

MOREIRA, A. C. P., E. D. O. LIMA, P. A. WANDERLEY, E. S. CARMO, E. L. DE SOUZA. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology** 41:28-33. 2010.

MUKHERJEE, K. P.; GUNASEKHARAN, R.; SUBBURAJU, T.; DHANBAL, S. P.; DURAISWAMY, B. P.; SURESH, B. V. Studies on the antibacterial potential of *Cryptostegia grandiflora* R. Br. (Asclepiadaceae) extract. **Phytother, Res.** 3(1): 70-72. 1999.

MULLA, M. S.; SU, T. Y. 1999 apud SHAALAN, E. A.; CANYON, D.; YOUNES, M. W. S.; ABDEL-WAHAB, H.; MANSOUR, A. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, pp. 1149-66, 2005

NISHIBE, S., FUJIMOTO, T., NOSE, M., TAKEDA, T., OGIHARA, Y., XU, G. Lignans from *Trachelospermum axillare*. **Phytochemistry** 32, 1579–1581. 1993.

NGOZI, L. U. et al. The Efficacy of *Hyptis Suaveolens*: A Review of Its Nutritional and Medicinal Applications. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, n. 6, p. 661-674, 2014.

NUNES, F. I. A. Caracterização estrutural de novos triterpenoides pentacíclicos. Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, **Universidade de Coimbra**, Coimbra, Portugal. 2013.

OLIVEIRA, C.M.A.; SILVA, M.D.R.; KATO, L.; SILVA, C.C. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.** 15:756-759. 2004.

OLIVEIRA, L.B.; NUNES, R.M.P.; SANTANA, C.M.; COSTA, A.R.; NUNES, N.M.F.; CALOU, I.B.F.; PERON, A.P.; MARQUES, M.M.M.; FERREIRA, P.M.P. Perfil do uso

- populacional de inseticidas domésticos no combate a mosquitos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 79-92, jan./jun. 2015.
- OLIVEIRA, S.L. Estudo de gene diferencialmente expressos em *Aedes aegypti* após infecção *Plasmodium gallinaceum* ou vírus de dengue. **Programa de Pós-graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro do Instituto de Ciências Biomédicas da USP** (Dissertação), 2011.
- OLIVEIRA, N. T.; ALMEIDA, S. S. M. S. **Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida Aublet* (Apocynaceae)**. Macapá, v. 6, n. 1, p. 20-25, 2016.
- OKIGBO, R. N.; OKEKE, J. J.; MADU, N. C. Larvicidal effects of *Azadiracta indica*, *Ocimum gratissimum* and *Hyptis suaveolens* against mosquito larvae. **J Agric Technol** 6:703–719, 2010.
- PAGES, F.; PEYREFITTE, C. N.; MVE, M. T.; JARJAVAL, F.; BRISSE, S.; ITEMAN, I.; GRAVIER, P.; NKOGHE, D.; GRANDADAM, M. *Aedes albopictus* mosquito: the main vector of the 2007 Chikungunya outbreak in Gabon. **PLoS One** 4: e4691. 2009.
- PANNEERSELVAM, C.; MURUGAN, K. Adulticidal, repellent, and ovicidal properties of indigenous plant extracts against the malarial vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.** 112, 679–692. 2013.
- PÁSKA, C.; INNOCENTI, G.; KUNVÁRI, M.; LÁSZLÓ, M.; SZILÁGYI, L. Lignan production by *Ipomoea cairica* callus cultures. **Phytochemistry**, 52, p. 879–883, 1999.
- PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A.; J. **Ethnopharmacol.** 76, 201.2, 2001.
- PATROL, R. *Ipoméia – Ipomoea cairica*. 2015, Disponível em:< <https://www.jardineiro.net/plantas/ipomeia-ipomoea-cairica.html>>, Acesso em :11 de dezembro de 2018.
- PAUPY, C; DELATTE, H; BAGNY, L; CORBEL, V; FONTENILLE, D. *Aedes albopictus*, na arbovirus vector: from the darkness to the light. **Microbes and Infection** 11: 1177-1185. 2009.
- PEERZADA, N. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. **Molecules**, 2(11), 165-168. 1997.
- PERRUCHON, S. Estudo das propriedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função estrutura. **Cosmetics & Toiletries** 14: 74, 2002.
- PERUMALSAMY, H.; KIM, N.J.; AHN, Y.J. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae), **J Med. Entomol.** 46(6):1420-3, Nov. 2009.
- PIER (**Pacific Island Ecosystems at Risk**), *Cryptostegia grandiflora* Summary: Ecology, synonyms, common names, distributions (Pacific as well as global), 2003. Management and impact information. Available from: [http://www.hear.org/pier/species/cryptostegia\\_grandiflora.htm](http://www.hear.org/pier/species/cryptostegia_grandiflora.htm) [acessado 04 de outubro de 2018].
- PIO CORREA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, **Ministério da Agricultura**, IBDF, 1926p. 1978.

- POLANCZYK, R. A et al Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Rev Saúde Pública**; 37(6): 813-6, 2003.
- POMILIO, A.B.; SPROVIERO, J.F. Complex anthocyanins from *Ipomoea congesta*. **Phytochemistry** 11, 2323–2326. 1972.
- PLUEMPANUPAT. S.; KUMRUNGSEE, N.; PLUEMPANUPAT, W. N. K.; CHAVASIRI, W.; BULLANGPOTI, V.; KOUL, O. Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and isolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. **Ind Crops Prod.** 2013 Jan; 44: 653–658. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.006>
- PROCÓPIO, S.O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III. Galinsoga parviflora, Crotalaria incana, Conyza bonariensis e Ipomoea cairica. **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.1-9, 2003.
- QADIR, U. Bioefficacy of *Anamirta cocculus* Linn. (Menispermaceae) seed extracts against dengue vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. S2, p. S556–S562, 2014.
- QIU, F. X.; GUBLER, D. J.; LIU, J. C.; CHEN, Q. Q. **Dengue in China: a clinical review.** **Bulletin of the World Health Organization** 71: 349-359. 1993.
- RAGHAVENDRA, K.; SINGH, S. P.; SUBBARAO SARALA, K.; DASH, A. P. Laboratory studies on mosquito larvicidal efficacy of aqueous and hexane extracts of dried fruit of *Solanum nigrum* Linn. **Indian J. Med. Res.** 130, 74–77. 2009.
- RAJASEKARAN A, DURAIKANNAN G. Larvicidal activity of plant extracts on *Aedes aegypti* L. **Asian Pac J Trop Biomed.** 2(3):1578–1582. doi: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60456-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60456-0). 2012.
- RAHUMAN, A. A.; GOPALAKRISHNAN, G.; VENKATESAN, P.; GEETHA, K. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.** 102 (7), 867–873. 2007.
- RAHUMAN, A. A.; GOPALAKRISHNAN, G.; VENKATESAN, P.; GEETHA, K. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.** 102, 867–873. 2008.
- RAI, K.S. *Aedes albopictus* in the Americas. Annual Review of Entomology 36: 459-484, 1991.
- RAJKUMAR, S; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, p. 107-109, 2010.
- RAMASAMY, R.; SURENDRAN, S. N.; JUDE, P. J.; DHARSHINI, S.; VINOBA, M. Larval development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in peri-urban brackish water and its implications for transmission of arboviral diseases. **PLoS Neglected Tropical Disease** 5(11): e1369. 2011.
- REY, D.; PAUTOU, M.P.; MEYRAN, J.C. Histopathological effects of tannic acid on the midgut epithelium of some aquatic dipteran larvae. **J Invertebr Pathol**, 73, pp. 173-181, 1999.

REBELO, M. M.; SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H.; MAIA, J. G. S. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Rev. bras. farmacogn.** vol.19 no.1b João Pessoa Jan./Mar. 2009.

RÍOS TESCH, N., R. MARQUEZ YANEZ, X. MENDOZA ROJAS, L. ROJAS-FERMIN, J. VELASCO CARRILLO, T. DIAZ, F. MORA VIVAS, C. YANEZ COLMENARES, P. MELENDEZ GONZALEZ. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae) from the Venezuelan Plains. *Revista Peruana de Biología* 22:103-107. 2015.

REFLORA, Herbário Virtual. **Exsicata *Hyptis suaveolens***. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do?idTestemunho=3105374>>. Acesso em 11 de outubro de 2018.

REFLORA, Herbário Virtual. **Exsicata *Ipomoea cairica***. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do?idTestemunho=3298022>>. Acesso em 11 de outubro de 2018.

REFLORA, Herbário Virtual. **Exsicata *Cryptostegia grandiflora***. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do?idTestemunho=2741784>>. Acesso em 11 de outubro de 2018.

RODRIGUES, A.C. et al. Efeito alelopático de folhas de bamburral [*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.] sobre a germinação de sementes de sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.). **Rev. bras. plantas med.**, v. 14, n. 3, p. 487-493, 2012.

ROSA, C.S; VERAS, K.S; SILVA, P.R; LOPES NETO, J.J; CARDOSO, H.L.M; ALVES, L.P.L; BRITO, M.C.A; AMARAL, F.M.M; MAIA, J.G.S; MONTEIRO, O.S; MORAES, D.F.C. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 19–26, 2016.

ROSEN, L.; ROSEBOOM, L. E.; GUBLER, D. J.; LIEN, J. C.; CHANIOTIS, B. N. Comparative susceptibility of mosquito species and strains to oral and parenteral infection with dengue and Japanese encephalitis virus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 34: 603-615. 1985.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 121: 996-1002. 2010.

SAMUEL, L.; LALROTLUANGA, MUTHUKUMARAN, R. B.; GURUSUBRAMANIAN, G.; SENTHILKUMAR N. Larvicidal activity of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet and *Ageratina adenófora* (Spreng.) King & H. Rob. plant extracts against arboviral and filarial vector, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Experimental Parasitology**. 141, 112–121, 2014.

SANTANA, H.T; TRINDADE, F; STABELI, R.G; SILVA, A.A.E; MILITÃO, J.S.L.T; FACUNDO, V.A. Essential oils of leaves of piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (díptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 105–111, 2015.

SANTANA, A. C. e col. Primeira Ocorrência de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) no Estado de Sergipe. **EntomoBrasilis**, v.7, n.3, p. 227-229, 2012.

SANTOS, M. R. V.; CARVALHO, A. A.; MEDEIROS, I. A.; ALVES, P. B.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A. R. Cardiovascular effects of *Hyptis fruticosa* essential oil in rats. **Fitoterapia**, v. 78, p. 186-191, 2007.

SARWAR, M; AHMAD, N; TOUFIQ, M. Host-plant-resistance-relationships in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against gram pod borer (*Helicoverpa armigera* Hubner). **Pak J Bot**, v. 41, 3047-3052, 2009.

SERVICE, M. Medical Entomology: for students. Cambridge. **Cambridge University**, p.285. 2004.

SEGURA, M. N. O.; MONTEIRO, H. A. O.; LOPES, E. S.; SILVA, O. V.; CASTRO, F. C.; VASCONCELOS, P. F. C. Encontro de *Aedes albopictus* no estado do Pará, Brasil. **Rev Saúde Pública.**; 37:388-9, 2003.

SOUZA, S. S. DE; SILVA, I. G. DA; SILVA, H. H. G. DA. Associação entre incidência de dengue, pluviosidade e densidade larvária de *Aedes aegypti*, no Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 152–155, abr. 2010.

SYAMASUNDAR, K. V. et al. Variations in volatile oil compositions of different wild collections of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit from western ghats of India. **Journal of Pharmacognosy**. Lisse, v. 3, n. 2, p. 131-135, 2012.

SILVA, W.J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. **Biores Technol** 99:3251–3255, 2008.

SINGHI, M.; JOSHI, V.; SHARMA, R. C.; SHARMA, K. Oviposition behaviour of *Aedes aegypti* in different concentrations of latex of *Calotropis procera*: Studies on refractory behavior and its sustenance across gonotrophic cycles. **Dengue Bulletin** 28:184-188, 2004.

SILVA, A. F. et al. Chemical Composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, p. 1-7, 2003.

SILVA, F.K.S. Sinopse e composição química dos óleos essenciais de espécies de Myrtaceae comercializadas como pedra-ume-caá em Belém- Pará. Tese de Doutorado em Botânica – **Universidade Federal da Amazônia**, Manaus. 68p. 2012.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta amazônica**. Manaus. v. 38, n. 1, 2008.

SILVA, W. J. Effects of essential oil on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, p.3251-3255, 2008.

SILVEIRA, P. F. et al., Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.618-26, 2008.

SIMARD, F; NCHOUTPOUEN, E; TOTO, J.C; FONTENILLE, D. Geographic distribution and breeding site preference of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Cameroon, Central Africa. **Journal of Medical Entomology** 42(5): 726-731. 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCBENKEL, E. P.; GOSMAM, G; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.;PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. (3ª ed.) Porto Alegre: **UFSC**. 2001.

SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: **ARTMED**, p. 147, 2017.

SINKINS, S.P. Wolbachia and arbovirus inhibition in mosquitoes. **Futur Microbiol.** 8(10):1249–56, out. 2013.

SOUZA FILHO, A.P.S; ALVES, S.M. Alelopátia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 260 p., 2002.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30: p. 351-355. 2007.

SCOTT T.W; CLARK G.G; LORENZ L.H; AMERASINGHE P.H; REITER P; EDMAN J.D. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. **J Med Entomol.** 30(1): 94–9. jan. 1993.

SOARES, S. F., L. M. BORGES, R. DE SOUSA BRAGA, L. L. FERREIRA, C. C. LOULY, L. M. TRESVENZOL, J. R. DE PAULA, P. H. FERRI. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Vet Parasitol** 167:67- 73. 2010.

SOUZA, L.K.H. et al. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v33, p. 247-249, 2002.

SHAALAN, E; CANYON, D; FARIED, M.W; ABDEL-WAHAB, H; MANSOUR A. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential **Environ. Int.** 31, p.1149- 1166, 2005.

SHARMA, P. MOHAN, L; SRIVASTAVA, C.N. *Amaranthus oleracea* and *Euphorbia hirta*: Natural potential larvicidal agents against the urban Indian malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 106, n. 1, p. 171–176, 2009.

SHARMA, A. L.; SAPRU, H. N.; CHOWDHURY, N. K. Hypoglycaemic activity of *Cryptostegia grandiflora* in rabbits. **Ind. J. Med. Res.**, 55(12): 1277-1280, 1967.

SHARMA, G. P.; RAIZADA, P.; RAGHUBANSHI, A.S. *Hyptis suaveolens*: Na emerging invader of Vindhyan plateau, India, Weed Byology and Management, **Okayama**, v. 9, p. 185- 191, 2009.

SUKUMAR, K.; PERICH, M. J.; BOOBAR, L. R. Botanical derivatives in mosquito control: a review. **J. Am. Mosq. Control Assoc**, 7, pp. 210-237,1991.

STASI, C.L.D. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar.** São Paulo. p.109-126, 1996.

TADEI, W. P.; SANTOS, J. M. M.; RODRIGUES, I. B.; RAFAEL, M. S. Pesquisa Científica e Tecnológica em saúde: Laboratório de vetores Malaria e Dengue. **Ministério da Ciência e Tecnologia**. 283p. 2010.

TEIXEIRA, M. G. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 5, p. 1307-1315, 2005.

TEIXEIRA, C. F.; AUGUSTO, L. G. S.; MORATA, T. C. Saúde auditiva de trabalhadores expostos a ruído e inseticidas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, p. 417-423, 2003.

- TEIXEIRA, M. G. et al. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, v.8, n.4, p.5-33, 1999.
- TENNYSON, S.; RAVINDRAN, K. J.; ARIVOLI, S. Bioefficacy of botanical insecticides against the dengue and chikungunya vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Asian Pac J Trop Biomed.** 2(3):1842–1844. doi: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60505-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60505-X). 2012.
- TOMLEY, A. J. The Biology of Australian weeds 26. *Cryptostegia grandiflora* R. Br. **Plant Protec. Quart.**, 10(4): 122-130, 1995.
- THOO, Y. Y., HO, S. K., LIANG, J. Y., WAI HO, C., TAN, C. P., Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). **Food Chemistry**, 120: p. 290–295. 2010.
- THOMAS, T.G.; RAO, S.; LAL, S. Mosquito larvicidal properties of essential oil of an indigenous plant, *Ipomoea cairica* Linn. Japanese **Journal of Infectious Diseases**, v.57, n.1, p.176-7, 2004.
- TRINDADE, F.T.T; STABELI, R.G; PEREIRA, A.A; FACUNDO, V.A; SILVA, A.A. Copaifera multijuga ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 3, p. 464–470, 2013.
- TRIPATHI, A. K., S. UPADHYAY. Repellent and insecticidal activities of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) leaf essential oil against four stored-grain coleopteran pests. **International Journal of Tropical Insect Science** 29:219. 2009.
- TRUMM, S.; EICH, E. Cytostatic activities of lignanoides from *Ipomoea cairica*, **Planta Medica**, v.55, p.658-9, 1989.
- TURRELL, M.J; O'GUINN, M.L; DOHM, D.J; JONES, J.W. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. **Journal of Medical Entomology**. v.38: 130-134. 2001.
- UGAZ, O. L. Manual de Fitoterapia. Lima: **EsSalud**. 2001.
- USEPA, Interim Reregistration Eligibility Decision (IREED) for Carbaryl. List A, Case 0080, **Revised**: 10/22/2004.
- VALDAMERI, G. (2008). Efeitos da Flavona sobre o Metabolismo Mitocondrial. Dissertação de Mestrado em Ciências–Bioquímica, **Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, Paraná, Brasil.
- VAZQUEZ-PROKOPEC G.M; KITRON U; MONTGOMERY B; HORNE P; RITCHIE A.S. Quantifying the Spatial Dimension of Dengue Virus Epidemic Spread within a Tropical Urban Environment. **PLoS Negl Trop Dis** 4(12): e920. 2010.
- VENIER, M.; HITES, R.A. DDT and HCH, two discontinued organochlorine insecticides in the Great Lakes region: isomer trends and sources. **Environment International**, 69, p.159- 165, 2014.
- VERA-ARZAVE, C.; ANTONIO, L. C.; ARRIETA, J.; CRUZ-HERNÁNDEZ, G.; VELÁZQUEZ-MÉNDEZ, A. M.; REYES-RAMÍREZ, A.; SÁNCHEZ-MENDOZA, M. E. Gastroprotection of suaveolol, isolated from *Hyptis suaveolens*, against ethanol-induced gastric lesions in Wistar rats: role of prostaglandins, nitric oxide and sulfhydryls. **Molecules**, v. 17, n. 8, p.8917-8927, 2012.
- VIANA, G. A.; SAMPAIO, C. G.; MARTINS, V. E. P. Natural plant products as an alternative tool for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae control. **J. Health Biol Sci**; 6(4):49-462, 2018.

- VIEIRA, R. Fundamentos de Bioquímica: textos didáticos. Belém: **Universidade Federal do Pará**, 159p. 2003.
- VIJAYAN, P.; RAGHU, C.; ASHOK, G.; DHANARAJ, S. A.; SURESH, B. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian. J. Med. Res.*, 120: 24-29, 2004.
- VILELA, A.P.; FIGUEIREDO, L.B.; DOS SANTOS, J.R.; EIRAS, A.E.; BONJARDIM, C.A.; FERREIRA, P.C.; KROON, E.G.L.B. Dengue virus 3 genotype I in *Aedes aegypti* mosquitoes and eggs, Brazil, 2005-2006. **Emerg. Infect. Dis.** v. 16, N. 6, p. 989-992, 2010.
- VIZZOTTO, M; KROLOW, A.C; WEBER, G.E.B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, documento, 1ª Ed, 316, 16 p. 2010.
- WALKER, T; JOHNSON, P.H; MOREIRA, L.A; ITURBE-ORMAETXE, I; FRENTIU, F.D. MCMENIMAN, C.J; et al. The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. **Nature**.476(7361):450–3, ago. 2011.
- WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n.5, p. 1362-1370, 2010.
- WARE, G.W.; WHITACRE, D.M. An Introduction to Insecticides. 4th edition. Willoughby, Ohio: **MeisterPro Information Resources**, pp. 225-247. 2004.
- WEAVER, S.C; REISEN, W.K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research** 85: 328. 2010.
- WEILER, C. B.; FROHLICH, J. K.; BOLIGON, A. A.; JANOVIK, V.; ATHAYDE, M. L. Potencial antioxidante in vitro das folhas de *Ipomoea cairica* L. **Weet. Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 5562, jul./dez. 2010.
- WESTERN AUSTRALIA (WA), Department of Agriculture, *Cryptostegia grandiflora* Summary: General information about the weed Rubber Vine in an Australian, 2002. **context.** Available from: <http://www.agric.wa.gov.au/programs/app/Weeds/rubbervine.htm> [Acessado em 04 de outubro de 2018].
- WINSKILL, P; CARVALHO, D.O; CAPURRO, M.L; ALPHEY, L; DONNELLY, C.A; MCKEMEY, A.R. Dispersal of engineered male *Aedes aegypti* mosquitoes. **PLoS Negl Trop Dis.** 9(11): e0004156. Nov, 2015.
- WISE DE VALDEZ, M.R; NIMMO, D; BETZ, J; GONG, H.F; JAMES, A.A; ALPHEY, L; et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 108(12):4772–5. mar. 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Dengue control support through eco-bio-social approach [Internet]. Geneva: **World Health Organization**, [citado 2018 mar 20]. Disponível em: [http://www.who.int/tdr/news/2013/dengue\\_control/en/](http://www.who.int/tdr/news/2013/dengue_control/en/). 2013.

YADAV, R., S. N. TIKAR, A. K. SHARMA, V. TYAGI, D. SUKUMARAN, A. K. JAIN, V. VEER. Screening of some weeds for larvicidal activity against *Aedes albopictus*, a vector of dengue and chikungunya. **Journal of Vector Borne Diseases**. 52:88-94. 2015.

YAKOB, L; ALPHEY, L; BONSALE, M.B. *Aedes aegypti* control: the concomitant role of competition, space and transgenic technologies. **J Appl Ecol**. 45(4):1258–65. Jun 2008.

YEAP, H.L; MEE, P; WALKER, T; WEEKS, A.R; O'NEILL, S.L; JOHNSON, P; et al. Dynamics of the “popcorn” Wolbachia infection in outbred *Aedes aegypti* informs prospects for mosquito vector control. **Genetics**.187(2):583–95, fev 2011.

YOUSAF, A.; ZUHARAH, W. F. Lethal response of the dengue vectors to the plant extracts from family Anacardiaceae. **Asian Pac J Trop Biomed**. 5(10): 812–818. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.016>. Oct. 2015.

ZAIDAN, L.B.P., DIETRICH, S.M.C. & SCHWABE, W.W. Effects of temperature and photoperiod on flowering in *Hyptis brevipes*. **Physiologia Plantarum** 81:221-226, 1991.

ZARA, A.L.S.A; SANTOS, S.M; FERNANDES-OLIVEIRA, E.S; CARVALHO, R.G; COELHO, G.E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, 25(2):391-404, abr-jun 2016.

ZOGHBI, M. G. B. et al. Composição química dos óleos essenciais de *Hyptia suaveolens* (L.) Poit.: uma espécie de ocorrência natural no nordeste paraense. **Revista Brasileira de Farmácia**. Rio de Janeiro. v. 89, n. 1, p. 6-9, 2008.