

# INVESTIGAÇÃO DO EFEITO LARVICIDA DA *PETIVERIA ALLIACEA* (GUINÉ) SOBRE AS LARVAS DO MOSQUITO DA ESPÉCIE *Aedes Aegypti*

## INVESTIGATION OF THE LARVICIDE EFFECT OF *PETIVERIA ALLIACEA* (GUINEA) ON THE MOSQUITOES LARVES OF THE *Aedes Aegypti* SPECIES

Andreia da SILVA<sup>1</sup>, Ana Carolina ROSA<sup>2</sup>, Filipe SIQUEIRA<sup>3</sup>, Ingrid HARTMANN<sup>4</sup>  
Maria Elena WALTER<sup>5</sup>, Wander de JESUS<sup>6</sup>

### Resumo

Atualmente, as principais doenças causadas pelo *Aedes aegypti* são dengue, chikungunya e zika. Para tanto, medidas de controle de vetores têm sido adotadas, desde a eliminação de focos de proliferação até o uso de agentes larvicidas. Portanto, o objetivo deste trabalho é testar extratos de *Petiveria alliacea* (Guiné), conhecidos como citotóxicos como larvicidas. Metodologia: O extrato bruto da Guiné foi usado a partir de 30% de hidroalcoólico percolado em diferentes diluições. O álcool não é extrato foi evaporado por convecção para a corrente de ar e o extrato, dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado para estabilizar uma emulsão. Os ovos foram adquiridos na região metropolitana de Belo Horizonte. Placas de madeira foram utilizadas nas ovitrampas com infusão atraente para o mosquito, sendo realizadas coleta e troca semanal. A incubação foi realizada em condições ambientais não controladas, mas monitorada. Dois grupos foram ensaiados e testados para larvas de estágio 3 em cada diluição (1%, 3%, 5%, 10%, 25%, 50% v / v) para o grupo de teste para refutar o efeito larvicida DMSO. Os ensaios foram realizados em 4 repetições. Resultados e discussão: Os resultados mostram que a hiperexcitabilidade das larvas nos extratos guineanos seguida de óbitos nas maiores diluições quando comparados aos grupos controle. Com isso, fica evidente que existe um efeito citotóxico do extrato de larva.

**Palavras-chaves:** *Aedes aegypti*; *Petiveria alliacea*; larvicida; dengue; saúde pública.

<sup>1</sup>Engenheira Química. Graduada pela Faculdade UNIBH. [andrea.dasilva10@gmail.com](mailto:andrea.dasilva10@gmail.com)

<sup>2</sup>Bióloga. Graduanda pela Faculdade Izabela Hendrix- IMIH. [anacarolinaalvesrosa@gmail.com](mailto:anacarolinaalvesrosa@gmail.com)

<sup>3</sup>Biólogo. Doutor em Ciências Biológicas. Concentração em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade Federal de Ouro Preto- UFOP. [filipebiosilva@gmail.com](mailto:filipebiosilva@gmail.com)

<sup>4</sup>Engenheira Química. Graduada pela Faculdade UNIBH. [gridyhartmann@gmail.com](mailto:gridyhartmann@gmail.com)

<sup>5</sup>Bióloga. Doutora em Ciências em Química Orgânica pela Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG. [melenawalter@gmail.com](mailto:melenawalter@gmail.com)

<sup>6</sup>Biólogo. Doutor em Ciências da Saúde pela FIOCRUZ. [wander.jeremias@gmail.com](mailto:wander.jeremias@gmail.com)

## Abstract

Currently, the main diseases caused by *Aedes aegypti* are dengue, chikungunya and zika. For this purpose, vector control measures have been adopted from the elimination of proliferation foci as well as the use of larvicidal agents. Therefore, the objective of this work is to test extracts of *Petiveria alliacea* (Guiné), known as cytotoxic, as larvicide. Methodology: Guiné's crude extract was used from 30% hydroalcoholic percolated at different dilutions. Alcohol is not extract was evaporated by convection to the air stream and extract, dimethylsulfoxide (DMSO) was added to stabilize an emulsion. The eggs were purchased in the metropolitan area of Belo Horizonte. Wood plaques were used in ovitraps with attractive infusion for the mosquito, and weekly collection and exchange were performed. Hatching was performed under uncontrolled environmental conditions, but monitored. Two groups were assayed and tested for stage 3 larvae at each dilution (1%, 3%, 5%, 10%, 25%, 50% v/v) for the test group to refute DMSO larvicidal effect. The assays were performed in 4 replicates. Results and discussion: The results show that the hyperexcitability of the larvae in guinean extracts followed by deaths at the highest dilutions when compared to the control groups. With this, it is evident that there is a cytotoxic effect of larvae extract of *Aedes aegypti* larvae and its larvicidal effect is confirmed. As dilutions that presented lower rate or absence of mortality were 1 and 3% v / v. It is known that the most abundant cytotoxic component is not essential from *Petiveria alliacea* is dibenzylsulphide (DTS). The yield of the purified oil is likely to be very low and therefore a concentration of DTS is insufficient to cause any effect on the larvae at such dilutions. Conclusions: The results showed that Guinea extract can be used as larvicide in concentrations higher than 5% v / v. It is suggested to carry out studies that test its influence of Guinean extract on the growth factors of *Aedes aegypti*.

**Keywords:** *Aedes aegypti*; *Petiveria alliacea*; larvicide; dengue; public health.

## INTRODUÇÃO

Os canais midiáticos têm apresentado a crescente preocupação e a importância do controle e combate ao mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor de transmissão de grave doença hemorrágica conhecida como dengue. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2016), o número de casos de dengue é hoje o de mais rápido crescimento entre as doenças infecciosas, abrangendo cerca de 400 milhões de ocorrências por ano. Nos últimos 50 anos ela tem se manifestado e expandido chegando a ser endêmico em 128 países, somando-se mais de 4 bilhões de habitantes. Além disso, viajantes para estas regiões também correm risco de carrear o vírus após ser alvo do mosquito. A dengue causa importantes consequências econômicas uma vez que lota hospitais, gera absenteísmo no trabalho e pelo risco de morte.

O combate do vetor tem sido o método de controle primário. Porém, apesar dos esforços, o número de casos permanece elevado (OMS, 2016). Pesquisas envolvendo o desenvolvimento de vacina contra dengue são bastante remotas. Entretanto, elas vêm atingindo um marco milenar, que se iniciaram em 2010 quando ocorreram os primeiros ensaios clínicos na fase III, em cujos testes são realizados em humanos suscetíveis a contrair a doença (GUY et al., 2011). No Brasil, foram aprovados ensaios em dezembro de 2015 para serem realizados em pessoas com faixa etária entre 9 a 45 anos de idade, que habitem zonas endêmicas. A patente da vacina em teste pertence à Sanofi Pasteur. O intuito da vacina é reduzir a morbidade e a mortalidade por dengue. A meta estabelecida pela OMS é de uma redução 25% na morbidade e 50% na mortalidade até o ano de 2020 (KANTOR, 2016).

Revista NBC - Belo Horizonte – vol. 10, nº 20, dezembro de 2020.



Apesar de excelente estratégia contra a dengue, a imunização por vacina não representa a solução de um problema de saúde pública. Sabe-se, atualmente, que além dos vírus da dengue, ele é vetor de vírus de outras duas doenças conhecidas: a Chikungunya e a Zika. Essa última tem gerado grandes transtornos à saúde pública frente ao seu potencial risco de acometer o desenvolvimento neurológico de fetos em qualquer idade gestacional quando a gestante contrai o vírus (CRF-SP, 2016).

Estas doenças são causadas pelos assim chamados arbovírus. Esse termo é uma abreviatura da expressão inglesa arthropod-bornvirus, que significa vírus oriundo de artrópodes, no caso do presente estudo, o mosquito *Aedes aegypti*. De acordo com a Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, 2016-a), o mosquito transmissor, *Aedes aegypti*, é originário do Egito, na África. Foi introduzido nas diversas regiões tropicais e subtropicais do planeta a partir do século XVI, período das Grandes Navegações. Acredita-se que o mosquito foi transportado em navios de tráfico de escravos. Foi reconhecido cientificamente no ano de 1762, quando foi denominado *Culex aegypti*. Porém, em 1818, após descrição do gênero *Aedes*, teve sua nomenclatura alterada definitivamente para *Aedes aegypti*.

Ainda conforme a FIOCRUZ (2016-a), os primeiros relatos de epidemia de dengue no continente americano ocorreram no Peru, no século XIX. Há relatos, também nesse período, de surtos nos Estados Unidos, Caribe, Colômbia e Venezuela. Os primeiros casos relatados no Brasil constam do final do século XIX, em Curitiba (capital do Paraná) e início do século XX, em Niterói (município do estado do Rio de Janeiro). Porém, a essa época, a preocupação maior era contra a transmissão da febre amarela.

Como resultado de medidas para controle dessa última, o Brasil chegou a erradicar o vetor em 1955. Porém, por relapso das medidas adotadas, houve reintrodução do mosquito no ano de 1976, em Salvador, capital da Bahia. Atribui-se esse ressurgimento do mosquito, também, ao êxodo rural e crescimento desordenado e sem infraestrutura das cidades, especialmente saneamento básico. Além disso, o crescimento industrial e automobilístico com geração de resíduos eliminados inadequadamente tornou-se criadouros do vetor. Hoje, abrange todo o território nacional (MARTINS, 2002; BRAGA; VALLE, 2007; CABRAL, 2015).

**Figura 1** – Manifestação mundial das arboviroses transmitidas pelo *Aedes aegypti*.



**Fonte**- “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)” In: FIOCRUZ-a Entretanto, a maior preocupação nos dois últimos anos, além das epidemias de dengue crescentes, é a expansão de arboviroses pelo mesmo vetor que são a Chikungunya e a Zika.

A FIG. 1 apresenta a distribuição atual dos arbovírus pelo mundo (FIOCRUZ, 2016-b). O infográfico (FIG. 2), preparado pela FIOCRUZ (2016-c) a partir do estudo de Honório et al.



(2015), mostra a rota de expansão da transmissão dos arbovírus que causam Chikungunya, o CHIKV.

Observa-se que a primeira evidência documentada da doença surge no Sudeste da Ásia e na Índia no ano de 1952. Somente em 2004, a doença aparece no Quênia e, desde então, passa por mutações virais e provoca epidemias nas Ilhas da Reunião, em 2006, quando surgem casos na Itália e na França, também. Em 2013, o vírus chega às Américas através do Caribe e, em 2014, foram registrados casos no Brasil, nos municípios de Oiapoque (no estado do Amapá) e em Feira de Santana (no estado da Bahia). Vale ressaltar que, tanto a Chikungunya quanto a Zika, são manifestações recentes e que causam grandes transtornos à saúde pública. Os primeiros registros da doença Zika datam de abril de 2015, no município de Natal (estado do Rio Grande do Norte).

Diante do cenário apresentado em que há crescente número de casos de dengue e, acima de tudo, maior diversidade de doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, é importante buscar alternativas para prevenir a infecção de mais pessoas. A imunização através de vacinas tem se mostrado a melhor forma de erradicar doenças. Neste caso, a proteção direta se daria ao imunizar as pessoas vacinadas e a proteção indireta ocorreria em função da redução de exposição para toda a população de risco por meio da redução de indivíduos infectados passivos de transmitir o vírus ao mosquito.

Entretanto, conforme exposto, apenas para a dengue há a possibilidade de se realizar essa medida cujos ensaios realizados com a vacina se mostraram eficazes, porém, ainda não disponível à população. Portanto, as medidas de prevenção e controle de sua proliferação ainda são as opções de primeira escolha.

Nesse âmbito, quanto maiores às opções de larvicidas, repelentes – seja de uso pessoal ou de ambiente – e inseticidas cujos componentes sejam menos agressivos ao indivíduo e ao ambiente, maior a possibilidade de a população se sensibilizar e apresentar adesão aos programas de prevenção e controle da proliferação do mosquito. Canais midiáticos chegaram a veicular uma falsa notícia de que larvicidas provocavam microcefalias, ao que se gerou grande resistência da população quanto à sua aplicação. Além disso, o custo para os órgãos públicos e para a população pode ser beneficiado com alternativas de produtos de combate aos insetos. Nesse sentido, o uso de componentes extraídos de óleos essenciais de plantas medicinais tem sido muito estudado como larvicida e repelente. A guiné (*Petiveria alliacea*) já é conhecida por sua capacidade inseticida e possui propriedades citotóxicas. A *Petiveria alliacea* é uma planta comumente encontrada em áreas residenciais na América Latina por suas propriedades medicinais e por credices populares. Então, visando esses aspectos, vislumbrou-se a possibilidade de sua capacidade citotóxica atuar sobre o desenvolvimento larvário de insetos. Desse modo, o objetivo do presente estudo é investigar a capacidade larvicida do extrato de *Petiveria alliacea*, planta conhecida popularmente como Guiné, Erva-de-pipi, Amansa-Senhor, entre outros nomes menos comuns. Os objetivos específicos do presente trabalho envolvem: obter o extrato bruto da *Petiveria alliacea*; testar seu efeito larvicida; quantificar a concentração letal larvicida.



**Figura 2-** Rota da doença Chikungunya pelo mundo.



**Fonte-** FIOCRUZ, 2016-c - *Aedes* em foco: arboviroses em expansão no Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### População

Foram estudadas larvas do mosquito *Aedes aegypti* a fim de se verificar capacidade larvicida do extrato oleoso das folhas da *Petiveria alliacea*.

### Ovitrapas

Foram confeccionadas armadilhas, ovitrapas, a partir de garrafas PET cortadas pela metade e pintadas com tinta preta texturizada. Essas dispunham de uma placa de madeira fixa junto à superfície da garrafa de modo a favorecer a oviposição, uma vez que a fêmea tem preferência por realizá-la à parede dos criadouros. As ovitrapas continham água com infusões de fermentados de gramíneas como forma de atraí-las a criadouros ricos em nutrientes para seus filhotes. As ovitrapas foram dispostas próximas a concentrações humanas dadas o seu hábito antropofílico, porém, suficientemente distantes para que não houvesse vítimas de arboviroses decorrentes deste estudo. O raio de segurança estabelecido foi de 3 m, distância máxima livre que o mosquito é capaz de se mover.

Semanalmente, foi realizada inspeção das ovitrapas e foram coletadas as placas, trocadas as soluções e colocadas novas placas.

### Preparo da infusão atrativa

Em estudo realizado por Sant'Ana et al. (2006) observou-se a capacidade atrativa à fêmea do *Aedes aegypti* por infusões preparadas a partir de fermentados de gramíneas. Nesse estudo foram avaliados fermentados aeróbios e anaeróbios e diferentes tempos de fermentação. Encontraram eficácia em fermentados anaeróbios com tempos de fermentação de 15 e de 20



dias. Com base nesse estudo, optou-se por realizar um fermentado anaeróbio de colônias-capim, cujo nome científico é *Panicum maximum*. Para o preparo utilizou-se proporções similares ao citado estudo de modo que uma massa 16 g da gramínea, cortada com tamanhos de 5 cm, foi colocada imersa em 2 litros de água em um frasco plástico tampado e submetida a fermentação anaeróbia. O frasco permaneceu hermeticamente fechado por 21 dias em repouso, à temperatura ambiente e ao abrigo da incidência direta de raios solares. Após esse período, o fermentado foi filtrado para retirar a biomassa. A infusão foi utilizada na proporção de 10% nas ovitrampas.

### **Coleta dos ovos**

A coleta dos ovos se deu a partir da identificação de sua presença na placa de madeira e sua retirada da armadilha. A placa foi, então, secada com papel toalha e armazenada nesse até o momento em que se realizaram os testes. Foi verificada a autenticidade dos ovos e realizada contagem da quantidade de ovos contidos nessas placas com o auxílio de uma lupa de aumento de 20 vezes e registrado.

### **Eclosão e obtenção das larvas**

As larvas lotadas para os bioensaios foram obtidas a partir da eclosão dos ovos coletados. Para tal, as placas de madeira contendo ovos foram submergidas para incubação em bandejas contendo água. Para mais fácil visualização e identificação das larvas em seu primeiro estágio, as bandejas utilizadas eram brancas proporcionando contraste de seus conteúdos. Suas dimensões eram de 28 x 42 cm e 7 cm de profundidade e continham 1,5 L de água. Essa era proveniente da rede pública de abastecimento de água. Foi realizada inspeção a cada 2 h após a exposição dos ovos à água para verificar a ocorrência de eclosões. Imediatamente após identificadas algumas eclosões as larvas foram alimentadas com ração de gato finamente moída conforme recomendações encontradas em literatura (SILVA et al., 1998). As larvas foram mantidas neste recipiente em condições ambientais estáveis até atingirem o terceiro estágio, idade alvo dos bioensaios, preconizada para avaliação de suscetibilidade e efetividade da ação larvicida.

### **Obtenção da planta *Pitiveria allicea***

Folhas frescas da planta, cujas idades são desconhecidas, foram obtidas a partir de cultivos domésticos da região centro-oeste do estado de Minas Gerais, mais especificamente, região metropolitana de Belo Horizonte, no período entre maio e setembro do ano de 2016. Durante coleta, a fim de caracterizá-las e identificar possíveis diferenças de constituintes químicos, foi verificada a forma de fertilização das plantas. Após sua colheita foi verificada sua autenticidade, identificada e armazenada em local fresco e ventilado a temperatura entre 20-25 °C.

### **Preparo das folhas e do extrato**

Após sua coleta, em um prazo máximo de 48 h, as folhas frescas foram lavadas com água destilada e secas com papel toalha. Da biomassa dessas amostras foram separadas alíquotas que foram submetidas a extrações hidro-alcoólicas conforme método de percolação descrito pela Normas Ramales de Salud Pública 311 (NRSP 311, 1998 apud ECHEVARRÍA; IDAVOY, 2001). A solução hidroalcoólica tem concentração de 30% v/v. Em uma proporção de 1:4 m/v da biomassa em relação a essa solução, as folhas foram trituradas finamente e mantidas em um percolador ao abrigo da incidência de radiação luminosa. Reservou-se o percolador durante 5 dias para, então, filtrar-se a mistura a fim de se obter o extrato bruto. O material sólido foi descartado enquanto o extrato foi armazenado em geladeira, a 4 °C, em frasco âmbar até o momento de sua utilização. Devido a fortes interferências do solvente orgânico utilizado, neste



caso o álcool etílico, durante os ensaios, foi necessário realizar-se sua evaporação. Essa foi procedida com o uso de um secador convectivo por fluxo de ar, a temperatura do aquecimento de seu motor (40°C). O percolado foi submetido a tal procedimento até que seu volume tivesse reduzido 30%. Após essa redução observou-se conteúdo oleoso na parede do Becker e utilizou-se dimetilsulfóxido (DMSO) para estabilizar a emulsão formada. Essa solução foi armazenada, novamente, em frasco âmbar em geladeira, a 4 °C, até o momento de sua utilização.

### **Bioensaios**

Os procedimentos dos bioensaios foram realizados conforme regem as diretrizes da OMS (WHO, 2005) – *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*. Os objetivos são estabelecer a relação dose-resposta à susceptibilidade do vetor estudado, determinar concentrações letais para mortalidade de 50 e 90% (CL50 e CL90). Os ensaios foram realizados em quadruplicata e seus dados foram registrados em formulário apropriado, conforme recomendado pelo *guideline* supracitado. Inicialmente, as amostras de larvas foram expostas a uma alta concentração do extrato, a fim de se averiguar se há atividade larvicida efetivamente.

### **Preparo das soluções dos extratos**

Os extratos obtidos foram diluídos sob agitação à água destilada a concentrações de 1, 3, 5, 10, 25 e 50% v/v. Para testes nos grupos controle, foi preparada uma solução de água destilada e a mesma concentração de DMSO que a solução teste e preparadas às mesmas diluições supracitadas para o extrato para fins de comparação quanto à capacidade larvicida do extrato, além de se verificar fatores interferentes relacionados ao solvente.

### **Atividade larvicida**

Larvas no terceiro estágio do ciclo de desenvolvimento larval foram selecionadas para serem submetidas aos testes. Elas foram pipetadas com pipetas Pasteur plásticas e transferidas a recipientes contendo 40 mL água da rede pública de abastecimento. Esses recipientes tinham dimensões de 15 cm de altura e 2,5 de diâmetro. Foram formados dois grupos contendo, aproximadamente, 25 indivíduos sadios e sem lesões. Um deles serviu de controle, o outro, o grupo que foi submetido ao larvicida em teste. Esses recipientes proporcionaram uma profundidade de 5 a 10 cm a fim de se evitar mortalidades indevidas. As larvas tiveram um fotoperíodo de 12 h em ambiente claro, sem incidência direta de raios solares, e 12 h de ambiente escuro. A temperatura a que foram expostas variou de 25 a 28°C, a uma umidade relativa do ar ambiente na ocasião. A temperatura e a umidade relativa do ar a que foram expostas foram devidamente registradas para fins de comparações posteriores. Os recipientes foram recobertos por microtule a fim de se evitar que algum adulto emergido de larva escapasse para o ambiente. Ao todo foram 12 recipientes utilizados para os bioensaios a saber, 2 grupos de 6 diferentes diluições. A mortalidade larvária foi registrada após 12 e 24, 48 e 72 h de exposição.

Foram consideradas mortas as larvas que não apresentavam movimentos normais comparadas ao grupo controle ou aquelas que não reagem a estímulo mecânico em sua região cervical.

Durante o período de testes as larvas de ambos os grupos continuaram a ser igualmente alimentadas com ração de gato finamente moída a uma concentração de 10 mg/L. Esse aporte nutricional foi fornecido em suspensão no meio através de uma ponta de espátula a cada dois dias até finalização da contagem de mortes.

## Análise estatística

Os percentuais de mortalidade observados durante os testes do potencial larvicida da guiné foram corrigidos utilizando-se a equação de Abbott (WHO, 2005), conforme segue:

$$\% \text{ mortalidade} = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

Em que: X é o número de larvas sobreviventes do grupo controle; Y é o número de larvas sobreviventes do grupo teste. A fim de se verificar se houve diferença estatisticamente significativa nos testes realizados aplicou-se o teste t de Student em cada concentração e em cada intervalo de tempo avaliado. As CL50 e CL90 foram calculadas a partir da regressão linear de dosagem log-probit paper. Foram obtidas, a partir desses, a equação e o R2 da dispersão gerada.

## RESULTADOS

Durante a realização das 4 réplicas dos testes, foram submetidos a eclosão 1.278 ovos, dos quais obteve-se 1.191 larvas. Dessas, 1.176 larvas foram identificadas estando no terceiro estágio sendo essas submetidas aos bioensaios. Nas duas primeiras réplicas, não foi possível alcançar o número de 25 larvas por concentração teste e controle devido à grande discrepância de idade encontrada nas larvas restantes, que se apresentavam ainda no primeiro estágio. Portanto, o número obtido foi de 24 larvas em cada recipiente. Nas duas outras réplicas, o número desejado de 25 larvas foi atingido.





**Tabela 1** – Atividade larvicida (mortalidade percentual média  $\pm$  desvio padrão) de diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico da *Petiveria alliacea*.

Concentrações (% v/v)	Tempo de exposição (Horas)			
	12	24	48	72
1	0 $\pm 0$	0 $\pm 0$	0 $\pm 0$	0 $\pm 0$
3	-1,08 $\pm 14,37$	13,98 $\pm 14,14$	28,57 $\pm 20,79$	28,41 $\pm 29,86$
5	-2,128 $\pm 10,34$	5,43 $\pm 10,73$	23,91 $\pm 18,87$	23,91 $\pm 18,87$
10	21,98 $\pm 32,64$	34,83 $\pm 29,56$	88,37* $\pm 17,32$	97,5* $\pm 3,61$
25	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$
50	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$	100* $\pm 0$

**Fonte-** Próprio Autor.

Os resultados obtidos estão sumarizados na TAB. 1. Observou-se que, para um nível de significância de  $p < 0,05$ , apenas as concentrações de 25 e de 50% v/v se mostraram eficientes como potenciais larvicidas em todos os intervalos de tempo. Nos intervalos de exposição de 48 e de 72 h, a concentração de 10% v/v também apresentou potencial larvicida com significância estatística.

Os resultados da análise de regressão linear apontam uma possível correlação entre o percentual de mortalidade e o tempo de exposição cujo coeficiente de regressão encontrado foi igual a 1 em todas as análises. Entretanto, devido à larga faixa de diferença entre as concentrações em que se encontram as CL50 de cada período de exposição, não se pode afirmar haver correlação íntima e sensível. A TAB. 2 apresenta os resultados dessa análise bem como as CL50 e CL90 encontrados para cada período de exposição. Os gráficos apresentados na FIG. 3 mostra os perfis de mortalidade por concentração em cada intervalo de exposição estudado.

Observa-se que, em todos os intervalos, especialmente nos de 24, 48 e 72 h há uma mortalidade reduzida para as concentrações de 3 e de 5% v/v. Este resultado explica-se por uma alta mortalidade encontrada em uma das réplicas para o grupo controle nestas concentrações, que foram superiores aos grupos experimentais correspondentes.

**Tabela 2** – Análise de regressão linear log-probit paper da atividade larvicida do extrato hidroalcoólico de *Petiveria alliacea* e sua correlação com o tempo de exposição; R<sup>2</sup> = coeficiente de correlação.

Tempo de exposição (h)	Equação da regressão linear	R <sup>2</sup>	CL <sub>50</sub> (%v/v)	CL <sub>90</sub> (%v/v)
12	y = 0,7907x - 1,5451	1	13,28243	22,0282
24	y = 0,6459x - 1,0791	1	11,52831	21,41511
48	y = 0,7802x - 0,8986	1	6,005149	10,02725
72	y = 0,9274x - 1,1355	1	5,833006	8,978616

**Fonte-** Próprio Autor.

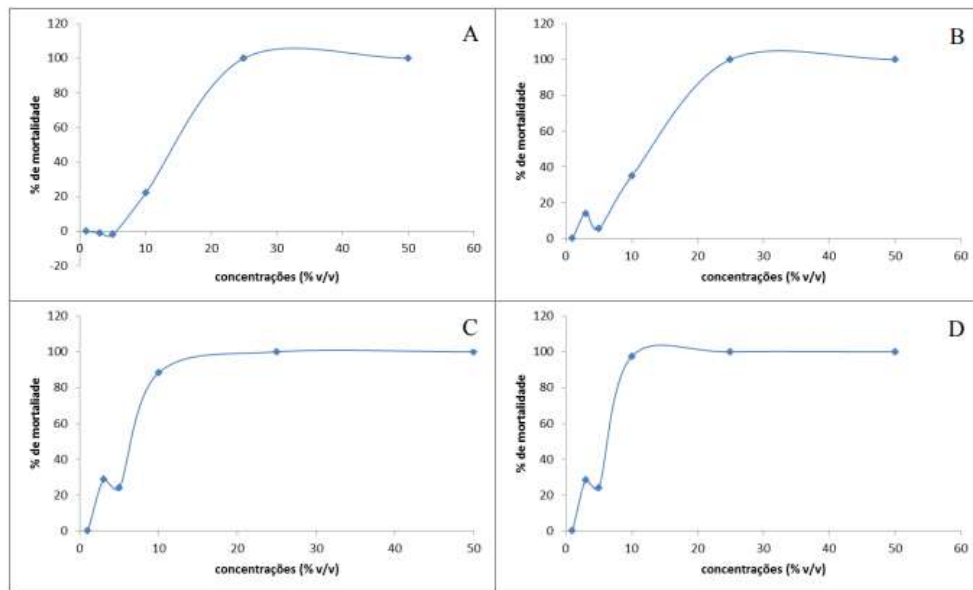
## DISCUSSÃO

Atualmente, a principal medida de controle do mosquito está direcionada ao combate às larvas. Inseticidas, em geral, são pouco eficientes, pois, ao contrário do que ocorre com as larvas, o mosquito adulto tem uma mobilidade muito grande. Além disso, inseticidas costumam ser tóxicos e altamente poluentes enquanto que larvicidas são mais restritos no tempo e no espaço resultando em menores danos ambientais. O controle da larva é mais fácil, pois é possível fazer estudos para estabelecer sua maior concentração populacional e atuar diretamente nessas áreas (HOWARD et al., 2007).

Por muitos anos o larvicida químico a base de organofosfarado era utilizado no controle do *Aedes aegypti* no Brasil, mas o uso frequente desse larvicida causou o desenvolvimento da resistência desse produto nas larvas do primeiro ao terceiro estágio de desenvolvimento, o que fez com que esse produto fosse substituído (BARRETO, 2005). Os óleos essenciais de plantas que possuem propriedades larvicidas e repelentes passaram a serem estudados para substituírem os larvicidas com propriedades químicas (COSTA et al., 2005; MURUGAN et al., 2007).



**Figura 3** – Perfil de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após período de exposição de 12 (A), 24 (B), 48 (C) e 72 h (D) ao extrato hidroalcoólico de *Petiveria alliacea*.



Fonte- Próprio Autor.

Os componentes secundários de plantas medicinais representam um vasto arsenal de compostos com ampla atividade biológica. O controle biológico de insetos e micro-organismos através de extratos e óleos essenciais de plantas vem sendo utilizado há centenas de anos. Entre as inúmeras substâncias ativas contidas na *Petiveria alliacea* o DTS é o mais importante por sua atividade comprovadamente citotóxica (RODRIGUEZ et al., 2004). Os resultados do presente estudo apontam para forte evidência da potencial capacidade larvicida sobre o *Aedes aegypti*. Sendo a substância mais abundante cuja atividade citotóxica está seletivamente associada a células de rápida proliferação, presume-se que o DTS seja o principal constituinte responsável pela atividade larvicida. Sabe-se que durante o estágio larvário do mosquito ocorre rápida proliferação celular até atingir a idade adulta. Entretanto, tendo-se conhecimento do revestimento cuticular por quitinas do epitélio das larvas, é mais provável que a ação das substâncias ativas da *Petiveria alliacea* tenha ocorrido sobre células mesentéricas intestinais. É conhecido que, em resposta ao efeito tóxico de qualquer substância, as células mesentéricas produzem toxinas que, dependendo do nível de agressão, ocorre destruição de suas células (ARRUDA et al., 2008).

Dessa maneira, a principal causa da morte seria desnutrição por ineficiência intestinal do absorver os nutrientes necessários para crescimento e desenvolvimento larvário (CABRAL, 2015). Como meio indireto de se observar essa interferência sobre o estado nutricional, seria indicado o fator de regulação de crescimento. Nesse caso, o desenvolvimento larvário deve ser observado até a idade adulta do mosquito (TELANG et al., 2007). Das concentrações testadas, observou-se uma lacuna importante para doses intermediárias a 5 e 25% v/v já que a CL50 foi encontrada na faixa entre 5,83 a 13,28% v/v. Então, mesmo com um coeficiente de regressão igual a 1, a especificidade e sensibilidade para estes resultados são questionáveis. Seria interessante que estudos fossem executados com uma maior quantidade de variações das concentrações próximas da CL50 encontrada. Outro aspecto a ser considerado quanto às soluções teste, é o rendimento do extrato hidroalcoólico da planta. Previamente à definição do método de extração do presente estudo, tentou-se o método de destilação de óleos essenciais pelo uso do Clevenger. Essa tentativa foi frustra já que não se obteve qualquer quantidade do



óleo. Diante disso, subentende-se que o rendimento da planta seja muito baixo. Logo, o extrato hidroalcoólico pode ter baixa concentração de substâncias ativas. Isso justificaria a falta de atividade larvicida nas soluções teste mais diluídas.

Em comparação com o estudo de Gomes e colaboradores, 2016, que utilizaram da mesma metodologia que o presente estudo, utilizando os rizomas do *Zingiber officinale Roscoe*, conhecida popularmente como gengibre, apresentaram bons resultados na utilização de diferentes concentrações de óleo essencial nos biossaes realizados em larvas em terceiro estágio de desenvolvimento para o mosquito adulto de *Aedes aegypti*.

**Tabela 3-** Mortalidade das larvas do mosquito *Aedes aegypti* após 24 horas de exposição em várias concentrações do óleo essencial extraído dos rizomas do *Zingiber officinale Roscoe*.

Dose $\mu\text{g mL}^{-1}$	Log dose	Mortos	Vivos	Acumulados mortos	Acumulados vivos	Mortalidade(%)
160	2,2041	10	0	53	0	100
150	2,1761	9	1	43	1	90
140	2,1461	9	1	34	2	90
120	2,0792	8	2	25	4	80
100	2,0000	8	2	17	6	80
70	1,8451	5	5	9	11	50
50	1,6990	3	7	4	18	30
20	1,3010	1	9	1	27	10

**Fonte-** GOMES, P.R.B. et al, 2016.

Ao analisar dos dados da Tabela 3, as menores concentrações de óleo essencial dos rizomas do *Zingiber officinale Roscoe* apresentaram a menor atividade larvicida, sendo elas 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 70  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , correspondendo a 10%, 25% e 50% do percentual de mortalidade, nas concentrações superiores as apresentadas anteriormente apresentou uma atividade larvicida superior, apresentando 100% do porcentual de mortalidade das larvas.

Os autores ressaltam que eles não podem atribuir a ação do larvicida ao composto  $\alpha$ -Zingibereno que estava presente em cerca de 27% das amostras dos rizomas de gengibre, essa alegação se da ao fato das literaturas usadas referentes às técnicas analíticas utilizadas para a construção do trabalho, o composto pode ter contribuído no efeito da ação do larvicida do óleo essencial extraído dos rizomas do gengibre. De acordo com Santos et al. 2006 e Simas et al. 2004, muitos produtos naturais auxiliam no efeito e na ação dos larvicidas extraídos de óleos essenciais, como os monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, linalol e eugenol. Os autores apontam que as características estruturais químicas podem interferir na atividade biológica do larvicida, como a ligação dupla exocíclica no  $\beta$ -pineno parece ser mais resistente que a ligação a ligação dupla endocíclica do  $\alpha$ -pineno. Portanto é evidente a importância do à importância da relação entre a estrutura química e atividade biológica dos compostos, pois as atividades do larvicida em diferentes concentrações apresentaram a causa da morte das larvas em terceiro estágio como uma possível inflamação do tegumento do animal, composto do larvicida pode atuar sobre as enzimas digestivas e neurológicas, o que faz com que o produto interaja com o tegumento do animal, pois quanto maior a lipofilicidade, maior a penetração no tegumento do inseto (ISMAN, 2016; KIM et al., 2003).

Diante disso os resultados alcançados com o óleo dos rizomas do *Zingiber officinale Roscoe* mostram a importância da pesquisa de larvicidas alternativos usando produtos de origem natural levando em consideração a minimização dos impactos ambientais e a da utilização de produtos químicos sintéticos.



Partindo dos resultados apresentados no presente estudos e em comparação aos resultados das literaturas usadas para a construção dessa pesquisa, a utilização de maiores concentrações de larvicidas produzidos a partir óleos essenciais das plantas *Petiveria alliacea* e *Zingiber officinale Roscoe* possuem uma alta eficiência no controle de larvas em terceiro estágio do mosquito *Aedes aegypti*, eles são menos nocivos as pessoas e aos animais silvestres e domésticos, ressaltando que nos estudos com a planta *Zingiber officinale Roscoe* foram realizados testes de toxicidade do larvicida, que apresentou uma porcentagem muito baixa, tornando o produto promissor no combate do crescimento de larvas do *Aedes aegypti*. Os lavicidas possuem atuações diferentes no que se refere à mortalidade das larvas, o que pode ser bom ao intercalar o uso dos dois larvicidas no combate pela população, o que torna baixa a capacidade de resistência das larvas, causando uma interrupção no ciclo de vida do mosquito.

## CONCLUSÃO

A partir dos experimentos do presente estudo, evidenciou-se atividade biológica do extrato bruto da *Petriveria alliacea* sobre larvas de *Aedes aegypti* classificando-o como potente larvicida. Sendo a planta muito comumente encontrada em residências no Brasil, é possível que a população utilize este método simples e aplicável para contribuir para a erradicação do mosquito transmissor de doenças hemorrágicas. Entretanto, mais estudos devem ser realizados a fim de se averiguar a toxicidade do extrato à CL50 sobre outros seres vivos, especialmente humanos. Além disso, sugere-se a continuidade do estudo sob as mesmas condições, porém com objetivo de verificar a influência do extrato da *Petiveria alliacea* sobre fator de regulação de crescimento e estado nutricional larvário. Com isso, será possível avaliar a segurança do uso rotineiro de tal larvicida.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA, W. CAVASIN, G. M., SILVA, I. G. **Estudo ultra-estrutural do efeito da toxicidade do extrato da Patologia Tropical**, v. 37, n. 3, pp. 255-267, set. 2008. Disponível em: . Acesso em: 22 nov. 2016.

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. 2005. Disponível em: . Acesso em: 14 dez. 2020.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. ***Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil**. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília – DF, v. 16, n. 2, p. 113-118, abr./jun. 2007. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2016. BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. O agente comunitário de saúde no controle da dengue. Brasília, 2009. Diponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.

CABRAL, S. S. **Atividade larvicida do estrato bruto de Swinglea lutinosa evidenciada pelas alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)**. 44 fl. Dissertação (Mestrado), Pós-graduação em Biologia da Relação ParasitoHospedeiro, Universidade Federal de Goiás, 2015.



CAMARGO, M. T. L. A. **Amansa-senhor: a arma dos negros contra seus senhores.** Revista Pós Ciências Sociais, v. 4., n. 8, São Luíz – MA, jul./dez., 2007.

COSTA, E. A. P. A.; SANTOS, E. M. M.; CORREIA, J. C.; ALBUQUERQUE, C. M. R. **Impact of small variations in temperature and humidity on the reproductive activity and survival of Aedes aegypti (Diptera, Culicidae).** Revista Brasileira de Entomologia, v. 54, n. 3, pp. 488-493, Recife – PE, set. 2010.

COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005. Disponível em: . Acesso em: 14 dez. 2020.

COSTA, L. H. **Análises do comportamento de oviposição e avaliações na supressão por armadilhas de grávidas de Aedes (Stegomyia) aegypti (Diptera: Culicidae).** 190 fl. Tese (Doutorado), Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, (UFMG), 2014. CRF-SP – CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. Manual de orientação ao farmacêutico: Dengue, Zika e Chikungunya. São Paulo, 52 p., fev. 2016.

FRÓMETA, S. S.; MORÁN, J. E. M.; PACHECO, A. O.; TAMAYO, Y. V. **Petiveria alliacea L.: distintas condiciones experimentales em la elaboracion de extractos com actividad antimicrobiana.** Revista Química Viva, n. 3, ano 12, Cuba, dez. 2013. Disponível em: < <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v12n3/sariego.pdf> >. Acesso em: 19 abr. 2016.

GOMES, P.R.B. et al . Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 18, n. 2, supl. 1, p. 597-604, 2016 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722016000600597&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000600597&lng=en&nrm=iso)>. access on 16 Dec. 2020. [https://doi.org/10.1590/1983-084x/15\\_214](https://doi.org/10.1590/1983-084x/15_214)

GOMES, T. M.; BARROS, F. T. V. **Propagação vegetativa de espécies invasoras de interesse da fitoterapia.** Ensaio preliminar. 36 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado), Curso de Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, jul. 2013. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.

GUEDES, C. M.; NOGUEIRA, N. G. P.; FUSCOALMEIDA, A. M.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. **Aividade antimicrobiana de extratos brutos de Petiveria alliacea L.** Latin American Journal of Pharmacy, v. 28, n. 4, pp. 520-524, São Paulo, 2009. Disponível em: < [http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/4/LAJOP\\_28\\_4\\_1\\_7\\_AIT6W1N9TT.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/4/LAJOP_28_4_1_7_AIT6W1N9TT.pdf) >. Acesso em: 19 abr. 2016.

GUY, B.; BARRERE, B.; MALINOWSKI, C.; SAVILLE, M.; TEYSSOU, R.; LANG, J. **From research to phase III: preclinical, industrial and clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. Vaccine.** França, v. 29, pp. 7229-7241, 2011. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Jean\\_Lang/publication/51483013\\_From\\_research\\_to\\_phase\\_III\\_Preclinical\\_industrial\\_and\\_clinical\\_development\\_of\\_the\\_Sanofi\\_Pasteur\\_tetravalent\\_dengue\\_vaccine/links/53d778390cf29265323cc68e.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jean_Lang/publication/51483013_From_research_to_phase_III_Preclinical_industrial_and_clinical_development_of_the_Sanofi_Pasteur_tetravalent_dengue_vaccine/links/53d778390cf29265323cc68e.pdf)>. Acesso em: 31 mar. 2016.

HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D. C. P.; CALVET, G. A.; BRASIL, P. **Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil.** Caderno de Saúde Pública, v. 31, n. 5, pp. 906-908, Rio de Janeiro - RJ, maio, 2015. Disponível em: . Acesso em: 4 abr. 2016.

HOWARD, A. F. V.; ZHOU, G.; OMLIN, F. X. **Malaria mosquito control using edible fish in western Kenya: preliminary findings of a controlled study.** BMC Public Health, v. 7, n. 199, ago. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1988819/pdf/1471-2458-7-199.pdf>>. Acesso em: 22 nov. 2016.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology.** n. 51, p. 45-66, 2006. Disponível em: . Acesso em: 14 dez. 2020.

ISMAN, M. Plant essential oil for pest and disease management. **Crop Prot,** n. 19, p. 603-08, 2000. Disponível em: . Acesso em: 15 dez. 2020.

KANTOR, I. N. **Dengue, Zika y Chikungunya. Medicina.** Buenos Aires, v. 76, n. 2, pp. 1-5, 2016. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2016.

KIM, B. N. et al. Bacteremia due to Tribe Proteaeae: a review of 132 cases during a decade (1991-2000). **Scandinavian Journal of Infections Diseases.** v. 35, n. 2, p. 98-103, 2003. Disponível em: . Acesso em: 15 dez. 2020.

KUBEC, R.; MUSAH, R. **Cysteine sulfoxide derivatives in Petiveria alliacea. Phytochemistry,** v. 58, pp. 981- 985, Nova York, 2001. Disponível em: < [https://www.researchgate.net/profile/Rabi\\_Musah/publication/11669267\\_Cysteine\\_sulfoxide\\_derivatives\\_in\\_Petiveria\\_alliacea/links/0c96051dd92fc1bab3000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rabi_Musah/publication/11669267_Cysteine_sulfoxide_derivatives_in_Petiveria_alliacea/links/0c96051dd92fc1bab3000000.pdf)>. Acesso em: 19 abr. 2016.

LACEN – LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA. **Avaliação da efetividade de larvicidas para o controle de Aedes aegypti em condições simuladas de campo. Governo do Estado da Bahia, Secretaria de Saúde do Estado da Bahia, Setor de Entomologia,** 2015. Disponível em: <<http://www.suvisa.ba.gov.br/sites/default/files/galeria/tex>>



to/2016/03/03/Relatorio%20larvicida%20%C3%BAltima%20vers%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2016.

MARTINS, V. S. **Dengue: Histórico e distribuição, fatores determinantes da sua transmissão, aspectos clínicos, prevenção e controle.** 40 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura), Faculdade de Ciências da Saúde, Centro Universitário de Brasília, 2002. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2016.

MONNERAT, R.; DUMAS, V.; RAMOS, F.; PIMENTEL, L.; NUNES, A.; SUJII, E.; PRAÇA, L; VILARINHOS, P. **Evaluation of diferente larvicides for the controlo f *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) under simulated field conditions.** BioAssay, v. 7, n. 3, Brasília–DF, 2012. Disponível em: <<http://www.bioassay.org.br/bioassay/article/view/73/154>>. Acesso em 19 abr. 2016.

MURUGAN, K. et al. Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta:Diptera:Culicidae). **Bioresource Technology**, v.98, p. 198–201, 2007. Disponível em: . Acesso em: 16 dez. 2020.

NRSP 311. **Normas Ramales de Salud Pública, Cuba. Medicamentos de origen vegetal. Extractos y tintuas.** Processos tecnológicos, 1992, pág. 1-13.

In: ECHEVARRÍA, A.; IDAVOY, D. T. **Efecto de um extracto de *Petiveria alliacea* Lin sobre ela crescimento de *Giardia lamblia* in vitro, Revista Cubana de Medicina Militar, v. 30, n. 3, pp. 161-165, 2001.** Disponível em: . Acesso em: 30 jun. 2016.

NUNES, F. P. **Controle do mosquito *Aedes aegypti* e fungos entomopatogênicos: possibilidade de inserção de temas de biologia para ensino médio num contexto regional.** 68 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura), Curso de Ciência da Natureza, Faculdade de Biologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, 2015. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2016.

OLIVEIRA, F. R. **Avaliação antifúngica, farmacognóstica e toxicológica sazonal de *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae).** 108 fl. Dissertação (Mestrado), pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, Belém – PA, 2012. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.

OLIVEIRA, S. M. M.; JOSE, V. L. A. **Dossiê técnico: Processos de extração de óleos essenciais. Instituto de Tecnologia do Paraná, set. 2007.** Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossietecnico/downloadsDT/MTgy>>. Acesso em: 21 abr. 2016.





ONU – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Dengue**. Disponível em: . Acesso em: 30 mar. 2016.

PÉREZ-LEAL, R.; GARCÍA-MATEOS, M. R.; MARTÍNEZ-VÁSQUEZ, M.; SOTO-HERNÁNDEZ, M. **Actividad citotóxica y antionxidante de *Petiveria alliacea* L.** Revista Chapingo Serie Horticultura, v. 12, n. 1, pp. 51-56, México, 2006. Disponível em: < [http://download.springer.com/static/pdf/885/art%253A10.1186%252F1472-6882860.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmccomplementalternmed.biomedcentral.com%2Farticle%2F10.1186%2F1472-6882-8-60&token2=exp=1461512305~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F885%2Fart%25253A10.1186%25252F1472-6882-860.pdf\\*~hmac=fa7c92d0232d99f2932ca63d83b725c7fece12f7bb8773366fe3da6919beaaa2](http://download.springer.com/static/pdf/885/art%253A10.1186%252F1472-6882860.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmccomplementalternmed.biomedcentral.com%2Farticle%2F10.1186%2F1472-6882-8-60&token2=exp=1461512305~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F885%2Fart%25253A10.1186%25252F1472-6882-860.pdf*~hmac=fa7c92d0232d99f2932ca63d83b725c7fece12f7bb8773366fe3da6919beaaa2)>. Acesso em: 19 abr. 2016.

RODRIGUEZ, Z. L.; PÉREZ, M. E. G.; DUHARTE, A. B.; PEÑA, O. G.; CASTILLO, A. A. La **tableta de anamú: um medicamento herbário imunostimulante**. Medisan, v. 8, n. 3, pp. 57-64, 2004. Disponível em: . Acesso em: 22 nov. 2016.

ROSADO-AGUILAR, J. A.; AGUILAR-CABALLERO, A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; BORGES-ARGAEZ, R.; GARCIA-VAZQUEZ, Z.; MENDES-GONZALEZ, M. **Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae)**. Veterinary Parasitology, v. 168, pp. 299-303, México, 2010. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.

SANT'ANA, A. L.; ROQUE, R. A.; EIRAS, A. E. **Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to *Aedes (Stegomyia)* (Diptera: Culicidae)**. Journal of Medical Entomology, v. 43, n. 2, pp. 214- 220, mar. 2006. Disponível em: < [https://www.researchgate.net/profile/Alvaro\\_Eiras/publication/7159870\\_Characteristics\\_of\\_Grass\\_Infusions\\_as\\_Oviposition\\_Attractants\\_to\\_Aedes\\_Stegomyia\\_Diptera\\_Culicidae/links/0fcfd5148084f4adfa000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Alvaro_Eiras/publication/7159870_Characteristics_of_Grass_Infusions_as_Oviposition_Attractants_to_Aedes_Stegomyia_Diptera_Culicidae/links/0fcfd5148084f4adfa000000.pdf)>. Acesso em: 27 maio 2016.

SANTOS, R. P. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity of the Essential Oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 5, p. 1027-1030, 2006. Disponível em: . Acesso em: 16 dez. 2020.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; LIRA, K. S. **Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório**. Revista de Patologia Tropical, v. 27, n. 1, pp. 53-63, jan-jun, 1998. Disponível em: . Acesso em: 16 dez. 2020.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilterpenóides. **Química Nova**, v. 27, n. 01, p. 46-49, fev. 2004. Disponível em: . Acesso em: 16 dez. 2020.



SOUZA, S. S.; SILVA, I. G.; SILVA, H. H. G. **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, pp. 152-155, mar.-abr., 2010.

TEIXEIRA, M. G., BARRETO, M. L., GUERRA, Z. **Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue.** Informe Epidemiológico do SUS, v. 8, n. 4, pp. 5-33, Salvador, BA, 1999. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2016.

TELANG, A.; FRAME, L.; BROWN, M. R. **Larval feeding duration affects ecdysteroid levels and nutritional reserves regulating pupal commitment in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (dipetera: culicidae).** The Journal of Experimental Biology, v. 210, pp. 854-864, 2007. Disponível em: < <http://jeb.biologists.org/content/jexbio/210/5/854.full.pdf>> . Acesso em: 17 maio 2016.

URUEÑA, C.; CIFUENTES, C.; CASTAÑEDA, D.; ARANGO, A.; KAUR, P.; ASEA, A.; FIORENTINO, S. **Petiveria alliacea extracts uses multiple mechanisms to inhibit growth of human and mouse tumoral cells.** Complementary and Alternative Medicine, v. 8, n. 60, Colômbia, 2008. Disponível em: < [http://download.springer.com/static/pdf/885/art%253A10.1186%252F1472-6882-860.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmccomplementalmed.biomedcentral.com%2Farticle%2F10.1186%2F1472-6882-860&token2=exp=1461510942~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F885%2Fart%25253A10.1186%25252F1472-6882-860.pdf\\*~hmac=c2691282ec350537a46e4e65d61710c1da100f77eb200919275dfd7759b1e858](http://download.springer.com/static/pdf/885/art%253A10.1186%252F1472-6882-860.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmccomplementalmed.biomedcentral.com%2Farticle%2F10.1186%2F1472-6882-860&token2=exp=1461510942~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F885%2Fart%25253A10.1186%25252F1472-6882-860.pdf*~hmac=c2691282ec350537a46e4e65d61710c1da100f77eb200919275dfd7759b1e858)> . Acesso em: 19 abr. 2016.

VALOTTO, C. F. B.; CAVASIN, G.; SILVA, R. G. SILVA, I. G. **Alterações morfológicas em larvas *Aedes aegypti* (linnaeus, 1762) (Dipetera, culicidae) causadas pelo tanino atéquico isolado da planta do cerrado *Magonia puvescens* (sapindaceae).** Revista de Patologia Tropical. Goiânia, GO, v. 39, n. 4, pp. 309- 321, out.-dez. 2010. Disponível em: . Acesso em: 1 abr. 2016.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides.**

WHO/CDS/WHOPES/GCDPP, 2005. WILLIAMS, L. A. D.; ROSNER, H.; LEVY, H. G.; BARTON, E. N. **A critical review of the therapeutic potencial of dibenzyl trisulphide isolated from *Petiveria alliacea* L (Guinea hen weed, anamu).** West Indian Medical Journal, v. 56, n. 1, pp. 17-21, Jamaica, 2007. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.