

Avaliação da atividade inseticida de látex e extratos vegetais frente a culicídeos*Evaluation of latex and vegetable extracts as insecticide against Culicidae*

Paula Eduarda da Silva Affeldt¹; Lucas Tobias Rodrigues Maciel^{1,2}; Lilian Saito Ormachea Bozo^{1,2}; Ana Paula da Silva Moreira Alves^{1,2}; Francine Alves da Silva Coêlho⁴; Gokithi Akisue^{1,3}; Matheus Diniz Gonçalves Coêlho^{1,2,5}

1- Fundação Universitária Vida Cristã – FUNVIC, Faculdade de Pindamonhangaba, curso de Farmácia, Pindamonhangaba, SP.

2- Fundação Universitária Vida Cristã – FUNVIC, Faculdade de Pindamonhangaba, Laboratório de Parasitologia e Malacologia - LAPAM, Pindamonhangaba, SP.

3- Fundação Universitária Vida Cristã – FUNVIC, Faculdade de Pindamonhangaba, Laboratório de Farmacognosia e Plantas Medicinais - LAFAPLAM, Pindamonhangaba, SP.

4- Universidade de Taubaté – UNITAU, Instituto Básico de Biociências – IBB, Laboratório de Parasitologia

5- autor para correspondência (Author for correspondence): profmatheuscoelho@gmail.com

RESUMO

No presente trabalho objetivou-se avaliar a atividade larvicida de drogas derivadas e extratos obtidos a partir de vegetais. Para tanto, foram coletadas amostras de látex de *Euphorbia milii*, *Euphorbia pulcherrima* e *Tabernaemontana* sp., e, em acréscimo, foram preparados extratos etanólicos e hidroalcoólicos de *E. milii*, utilizando o método de extração em Soxhlet e o processo C da Farmacopeia Brasileira, respectivamente. As larvas dos culicídeos foram coletadas mediante confecção de armadilhas compostas de garrafas *pet*, sendo identificadas mediante utilização de chave de identificação específica, sendo posteriormente separadas em grupos de 10, e colocadas em tubos de ensaio, nos quais foram acrescentados os extratos e látex testados, em quatro diferentes diluições, a saber: 2,5mg/mL, 5mg/mL, 10mg/mL e 20mg/mL. Entre o total de larvas coletadas, a saber, 290 espécimes, 95 foram aleatoriamente selecionadas para identificação, com predominância de *Psorophora* (37,9%) e *Aedes aegypti* (35,8%). Observou-se que o látex e o extrato etanólico de *E. milii*, bem como o látex de *E. pulcherrima*, todos na concentração de 20mg/mL, apresentaram 100% de atividade larvicida frente a culicídeos, demonstrando assim o potencial do uso desses princípios para o controle de populações desses insetos, particularmente de *A. aegypti*, haja visto seu papel fundamental na transmissão da dengue, e outras doenças, trazendo à tona a necessidade de delineamento de futuras pesquisas para o isolamento e identificação de princípios ativos, úteis para o planejamento de novos produtos com atividade inseticida.

Palavras-chave: Culicídeos, *Aedes aegypti*, Euphorbiaceae, extratos, controle de vetores

ABSTRACT

In this study intended to verify the larvicidal activity of derived drugs and extracts obtained from vegetables. Therefore, samples of latex were collected of *Euphorbia milii*, *Euphorbia pulcherrima* e *Tabernaemonta* sp. and, in plus, with the method of Soxlet and the Process C of Brazilian Pharmacopeia, it was prepared extracts ethanolic and hydroalcoholic, consecutively of *E. Milii*. The culicids larvae were collected by making traps made of plastic bottles, identified by using specific identification key, after that it were separated in groups of 10, and put in test tubes, which were added the latex or the extracts tested at four different dilutions, namely 2.5 mg/mL 5 mg/mL 10 mg/mL and 20 mg/mL. Among the total number of collected larvae, namely 290 specimens, 95 were randomly selected for identification, predominantly *Psorophora* (37.9%) and *Aedes aegypti* (35.8%). It was observed that the latex and the ethanolic extract of *E. milii* and latex *E. pulcherrima*, at concentration of 20 mg/mL, showed 100% larvicidal activity against mosquitoes, thus demonstrating the potential use of these principles to control populations of these insects, particularly of *A. aegypti*, whereas the role in the transmission of dengue and other diseases, bringing the need for design of future research for the isolation and identification of active compounds, useful for planning new products with insecticide activity.

Keywords: vector control, culicids, *Aedes aegypti*, Euphorbiaceae, extracts

INTRODUÇÃO

Os culicídeos, conhecidos também como mosquitos, pernilongos, muriçocas ou carapanãs, pertencem a ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae (Carvalho, 2013). Foi no ano de 1930 que o interesse pelos culicídeos progrediu no Brasil, devido às intensas campanhas contra a malária que estavam no auge nesse período. Nessa época, intensificaram-se os estudos dessas espécies devido à sua grande importância sanitária (Santos et al., 2013).

Diversos fatores contribuem para a produção, distribuição e controle de doenças transmitidas por vetores, podendo-se citar como um dos fatores primordiais a expansão das cidades, situação que cria sérios problemas relacionados ao planejamento e saneamento, pois estes mosquitos podem se adaptar facilmente às áreas urbanas, particularmente algumas espécies, dentre as quais *Culex quinquefasciatus* Say e *Aedes aegypti* Linnaeus (Pereira et al., 2009).

A. aegypti é uma espécie de mosquito originária da África e foi introduzida nas Américas durante o período da colonização, tendo sido descrito no Egito, de onde vem seu nome científico. É predominante nas áreas tropicais e subtropicais. A convivência homem-mosquito dá-se através de criadouros artificiais no desenvolvimento das formas jovens, dando a característica urbana à espécie (Martins & Vieira, 2013). Tal espécie atualmente é considerada a única transmissora da dengue no Brasil (Souza, 2012).

A dengue é uma enfermidade causada por um Flavivírus, da família Flaviviridae, da qual são conhecidos atualmente quatro sorotipos de vírus: DEN 1, DEN 2, DEN 3 e DEN 4 sendo considerada a mais importante arbovirose que afeta o homem em termos de morbimortalidade. Anualmente, mais de 100 milhões de pessoas, habitantes de 61 países tropicais de todo mundo, se infectam com o vírus e essas epidemias vêm ocorrendo de forma crescente em quase todo o Brasil desde

1986, incluindo casos de dengue hemorrágica (Pereira et al., 2009; Dill et al., 2012).

Até o presente momento, não está estabelecida uma estratégia terapêutica de tratamento ou prevenção em massa para pacientes acometidos ou passíveis de adquirir a dengue, dado à imunidade homológica que cada sorotipo do vírus confere a seu hospedeiro, fato este que dificulta a criação de vacinas (Souza, 2012).

A principal estratégia de controle da disseminação da doença está relacionada ao controle dos criadouros do mosquito, devendo-se impedir que os ovos cheguem à fase adulta já que *A. aegypti* é um mosquito oportunista de elevada distribuição geográfica, sendo considerado doméstico, vivendo dentro e nas redondezas de domicílios e em locais com grande movimentação de pessoas, tais como escolas, igrejas e estabelecimentos comerciais (Grzybowski, 2011).

Os métodos de controle mais utilizados são os inseticidas químicos, no entanto, além de tóxicos para o meio ambiente, populações do mosquito têm se tornado resistentes a esse tipo de inseticida. Diante dessa evidência, novas formas de controle visando mais eficácia e menos impacto ambiental vêm sendo pesquisadas e implantadas no combate ao mosquito da Dengue (Martins & Vieira, 2013).

A alta resistência de *A. aegypti* aos inseticidas organofosforados gera uma amplificação do problema no uso destas substâncias, já que esses inseticidas seguem uma relação do volume utilizado para dedetização e a frequência das aplicações, que se tornam cada vez maiores na tentativa de recuperar a eficácia do produto. Consequentemente há o aumento dos danos ambientais e para a saúde humana (Leite, 2011).

Tendo em vista o grande risco que a dengue traz hoje em dia, bem como a ineficácia e os danos causados pelo uso de inseticidas sintéticos, sendo eles tóxicos para o ser humano e para o meio ambiente, é de

fundamental importância a busca por uma alternativa segura e eficiente para o controle do vetor, atentando-se para a possibilidade de se obter através de extratos vegetais uma maneira natural e eficaz no combate desse grande problema de saúde pública que é enfrentado atualmente.

Com característica de seleção recíproca entre organismos interdependentes, as plantas produzem substâncias inseticidas e antimicrobianas como resultado dos mecanismos de defesa desenvolvidos contra insetos predadores (Souza, 2012). O emprego de substâncias extraídas de plantas utilizadas como inseticidas traz inúmeras vantagens quando comparadas às substâncias químicas usadas nos dias atuais, visto que os inseticidas naturais são provenientes de recursos renováveis, são rapidamente degradáveis, e o desenvolvimento de resistência a essas substâncias é lento devido à sua composição. Além disso, tais substâncias são de fácil acesso e obtenção e também não deixam resíduos em alimentos, além de serem de baixo custo de produção (Maciel et al., 2010).

OBJTIVO

Assim sendo, no presente trabalho objetivou-se avaliar a atividade larvicida dos látex, extrato etanólico e hidroalcoólico de *Euphorbia milii* Des Moul e dos látex de *Euphorbia pulcherrima* Willd e *Tabernaemontana* sp. para o controle do mosquito *Aedes aegypti*, dada a potencial toxicidade e atividade biológica apresentada pelas espécies vegetais supracitadas, particularmente dos látex, uma vez outros pesquisadores já demonstraram atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* Say e atividade anti-helmíntica (Mwine & Van Damme, 2011; Santos et al., 2013).

MATERIAL E MÉTODOS

Para o delineamento experimental, os testes larvicidas foram realizados com o látex de *Euphorbia milii*, *Euphorbia pulcherrima* e *Tabernaemontana* sp., e também com os extratos hidroalcoólico e extrato etanólico na

proporção de 2:1 da *E. milii* contra larvas de culicídeos.

Os látex foram obtidos por extração manual, com auxílio de um estilete. O extrato hidroalcoólico foi preparado segundo o Processo C da Farmacopéia Brasileira 2ª Edição o qual é um processo de percolação fracionada cujo teor alcoólico utilizado foi de 50%.

Foi obtida uma porção de 1000g da droga vegetal pulverizada em três porções de 500g, 300g e 200g respectivamente. A primeira porção (500g) foi umedecida uniformemente com o líquido extrator e transferida para o percolador onde foi coberta até submersão, deixando macerar pelo tempo necessário. Após esse período prosseguiu-se a percolação da seguinte forma: separaram-se os primeiros 200 mL e depois separadamente foram recolhidas cinco frações sucessivas de 200 mL de percolato, sendo numeradas na ordem em que foram obtidas. Foi umedecida a segunda porção da droga com quantidade suficiente do percolato obtido imediatamente depois da fração separada. Em seguida, realizou-se a percolagem da mesma forma utilizada para a primeira porção da droga, usando como líquido extrator as porções restantes do percolato, obtidas na primeira operação e utilizando-as na ordem em que foram recolhidas. Foram separados os primeiros 300 mL do novo percolato e recolhidas mais cinco frações de 200 mL, numeradas na ordem que foram obtidas. Foi umedecida a terceira porção da droga com quantidade suficiente da primeira fração numerada do percolato da segunda porção como na operação precedente, empregando-se como líquido extrator as frações de 200 mL de percolato da segunda porção, na ordem em que foram recolhidas. Foram recolhidos 500 mL de percolato. Sequencialmente, os três percolatos obtidos foram separados das três porções da droga, para obter 1000 mL.

O extrato etanólico foi preparado por extração em Soxlet. Para obtenção do extrato foram transferidos 100 mg de droga previamente dessecada e pulverizada de *E. milii* para uma

cápsula de papel de filtro cobrindo-a com algodão, sendo em seguida colocada no Soxhlet.

Foi montado o balão de fundo redondo no aparelho contendo 500 mL de etanol absoluto, em banho-maria, tomando-se a precaução de assegurar vedação na junta esmerilhada do balão. Procedeu-se à extração sob condições de aquecimento suficientes para manter o solvente em ebulição moderada durante 11 horas. Posteriormente, o extrato foi concentrado em rotavapor até chegar à proporção de 1:2. O processo foi repetido até chegar ao volume final de 2 litros de extrato fluido.

Para obtenção das larvas, foram confeccionadas armadilhas feitas com garrafas *pet* colocadas ao ar livre em residências do município de Taubaté, Pindamonhangaba e Potim, SP. Foram obtidas 290 larvas, sendo que 95 foram selecionadas aleatoriamente para a identificação das espécies predominantes, por meio de chave de identificação de Culicídeos. As larvas foram separadas, de forma aleatória, em grupos de 10, e colocadas em tubos de ensaio, nos quais foram acrescentadas diferentes diluições dos látex e extratos, nas seguintes diluições: 20 mg/mL, 10 mg/mL, 5 mg/mL e 2,5 mg/mL, sendo as mesmas realizadas em água destilada, e, para o grupo controle, as larvas foram também agrupadas em grupos de 10, porém em tubos

de ensaio contendo apenas água destilada. As larvas foram mantidas a temperatura e umidade ambiente (aproximadamente 27°C/65%) observadas por 24 horas sendo anotada a mortalidade em cada grupo após esse período.

Para avaliação estatística dos resultados obtidos, utilizou-se o método de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Student-Newman-Keuls, sendo a escolha do método determinada pela normalidade das médias obtidas.

RESULTADOS

Após a identificação das larvas, observou-se uma prevalência significativa ($P < 0,005$) do gênero *Psorophora* (37,9%) e de *Aedes aegypti* (35,8%), seguidos de *Aedes albopictus* 22,1% e com menor prevalência de larvas do gênero *Culex*, com apenas 4,2%.

Como resultado do teste larvicida, observou-se que o extrato etanólico 2:1 de *E. milii* apresentou 100% de atividade na concentração de 20mg/mL, sendo estes resultados semelhantes aos observados após avaliação dos látex de *E. milii* e *E. pulcherrima* na mesma concentração, e significativamente superiores ($p < 0,005$) aos demais extratos avaliados. Nas demais concentrações avaliadas, nenhum das preparações avaliadas apresentou atividade larvicida significativa, conforme exposto na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade larvicida de extratos e látex de vegetais frente a culicídeos

Table 1. Larvicidal activity of extracts and latex of vegetables face to culicids

Diluições	<i>E. milii</i> Extrato Hidroalcoólico 1:1	<i>E. milii</i> Ext Et 1:2	Látex <i>E. milii</i>	Látex <i>E. pulcherrima</i>	Látex <i>Tabernaemontana</i> sp
2.5 mg/mL	0%	0%	10%	10%	30%
5 mg/mL	0%	0%	40%	30%	30%
10 mg/mL	0%	10%	50%	60%	50%
20 mg/mL	0%	100%*	100%*	100%*	60%
Controle	0%	0%	0%	0%	0%

* valores significativamente superiores ($p < 0,005$) quando comparados ao grupo controle.

DISCUSSÃO

Os mosquitos pertencentes à Ordem Diptera e à Família Culicidae são conhecidos não só pelo incômodo que causam por ocasião da picada, mas também pelo papel epidemiológico que desempenham, já que são transmissores de diversos agentes infecciosos, ao exercerem a hematofagia no homem e em outros vertebrados. O ciclo biológico desses insetos possui 4 fases, a saber: ovo, larva, pupa e adultos (Rodrigues, 2013).

Tendo em vista que a fase larvária é a de maior susceptibilidade do ciclo biológico e também dada a baixa complexidade de manuseio, comumente a busca por produtos inseticidas tem foco na pesquisa de atividade larvicida.

Dentre os diversos culicídeos presentes no ecossistema, podemos evidenciar *Aedes aegypti*, mosquito transmissor da dengue. Embora recentemente tenha sido desenvolvida uma vacina para controle dessa enfermidade, esse inseto é capaz de transmitir agentes causadores de outras patologias, a saber, febre amarela, febre Chikungunya, e zika vírus (Marcondes & Ximenes, 2016), o que justifica a importância do delineamento de pesquisas que visem à eliminação ou ao controle de populações dessa espécie de vetor.

O gênero *Euphorbia* (Euphorbiaceae) apresenta um grande número de diterpenos polifuncionais em sua composição, bem como lectinas e lisozimas com propriedades biológicas reconhecidas. São compostos na maioria das vezes irritantes cutâneos e tóxicos, e ainda podem promover tumores na pele. Os não-irritantes são os diterpenóides polifuncionais não macrolídeos, dentre os quais a quercetina e polifenóis. Alguns extratos de espécies desse gênero já apresentaram ação anti-helmíntica, repelente, inibidora da alimentação e controladora de *Plutella xylostella* (traça-das-crucíferas) e *Rotylenchulus reniformis* (fitonematóide) e antimicrobiana (Panneerselvam et al., 2013).

No presente trabalho, o látex de *E. milii* apresentou atividade larvicida significativa ($p < 0,005$) contra culicídeos, quando comparado ao grupo controle, na concentração de 20 mg/mL, assim como o extrato etanólico na proporção 1:2, nesta mesma concentração. Resultados semelhantes foram observados quando da avaliação da atividade larvicida do látex de *Euphorbia pulcherrima*. Diversos pesquisadores já demonstraram o uso potencial de látex das duas espécies supracitadas para controle de diversos patógenos e vetores de doenças (Oliveira-Filho et al., 2013) (D’Incao et al., 2014).

Em estudo realizado por Oliveira-Filho et al., (2013), o látex de *E. milii* foi apontado como um potente moluscicida contra *B. glabrata* e como uma alternativa interessante aos produtos químicos sintéticos, sendo também identificada sua composição química, a saber: compostos triterpenos, flavonóides, lasiodiplodin, miliaminas A-G, miliaminas H e I, miliamina L e a euphorbina.

Ainda no que concerne a *E. milii*, um estudo fitoquímico da espécie, após comprovada a ação moluscicida do látex, proporcionou o mais potente produto natural para esta finalidade, a miliamina L cuja a concentração letal é de 2,5 µg/L para 100% dos caramujos (Moreira et al., 2010).

Com relação a *E. pulcherrima*, em estudo realizado por D’Incao et al. (2014), o extrato dessa espécie mostrou-se ativo contra *Spodoptera frugiperda* (lagarta do trigo). A toxicidade deste extrato foi explicada pela presença de compostos fenólicos como a quercetina e o kaempferol. O extrato polipeptídico dessa mesma planta também reduziu o período larvário da lagarta e em acréscimo o decocto e o extrato polipeptídico reduziram o número de ovos e de eclosão de larvas, diferindo significativamente do grupo controle.

Muito embora haja um elevado potencial de espécies de Euphorbiaceae para uso como larvicidas no controle de criadouros de *A.*

aegypti, até onde se estendeu a pesquisa bibliográfica realizada no presente trabalho, são escassos os estudos que avaliaram ou comprovaram tal propriedade, impulsionando a relevância dos resultados apresentados no presente trabalho.

Neste sentido, Lima et al. (2006) demonstraram atividade larvicida de hidrolatos de quatro espécies de Croton (Euphorbiaceae) contra larvas de *A. aegypti*. Por meio de prospecção fitoquímica, os autores identificaram a presença de fenilpropanóides hidrossolúveis em duas das espécies que apresentaram maior atividade, à semelhança de estudos anteriores, que consideraram estes compostos os mais ativos contra *A. aegypti*.

É muito importante levar em consideração que muitas espécies da família Euphorbiaceae são tóxicas e devem ser empregadas com cautela. A toxicidade do látex para eritrócitos humanos ressalta a importância do isolamento das substâncias ativas para avaliação da toxicidade (Moreira et al., 2010).

Cabe ressaltar que a composição do látex pode variar amplamente e o fato de um vegetal ser latescente, não implica dizer que este necessariamente apresentará alguma atividade biológica significativa, o mesmo podendo-se afirmar quanto à atividade larvicida contra *A. aegypti*, a exemplo dos resultados apresentados no presente trabalho, quando da avaliação larvicida do látex de *Tabernaemontana* sp., que não apresentou eficácia significativa em relação ao grupo controle.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos destacam a elevada potencialidade do uso dos látex de *E. pulcherrima* e do látex e extrato etanólico de *E. milli* para controle de populações de culicídeos, que são importantes vetores de diversas patologias, e trazem à tona a iminência do delineamento de futuras pesquisas que objetivem determinar CL50 e reprodutibilidade dos resultados em maior número de réplicas, bem como elucidar quais

compostos das drogas derivadas e extrato supracitados são responsáveis pela atividade larvicida, como forma de embasar o planejamento de futuros produtos aplicáveis para a prevenção primária de doenças transmitidas por culicídeos.

REFERÊNCIAS

- CARVALHO, G. C. 2013. **Investigação de fontes alimentares de culicídeos coletados em parques municipais de São Paulo pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)** [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
- D'INCAO, M. P.; QUADROS, B. C.; SOARES, P.; KNAACK, N.; FIUZA, L. M. 2014. Lethal and sublethal effects of leaves extracts from native and exotic plants in Southern Brazil against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. **Journal of Agricultural Science and Technology**. 4: 141-148.
- DILL, E. M.; PEREIRA, M. J. B.; COSTA, M. S. 2012. Efeito residual do extrato de *Annona coriacea* sobre *Aedes Aegypti*. **Arquivos do Instituto Biológico**. 79 (4): 595-601.
- GRZYBOWSKI, A. 2011. **Fitolarvicidas para o controle do vetor da dengue e febre amarela, *Aedes aegypti*** [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná.
- LEITE, A. A. 2011. **Avaliação do potencial larvicida da *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F Austin & Staples (1983) no controle populacional do vetor da dengue *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)** [monografia]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas.
- LIMA, M. G. A.; MAIA, I. C. C.; SOUZA, B. D.; MORAIS, S. M.; FREITAS, S. M. 2006. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 48 (4): 211-214.
- MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; AMÓRA, S. S. A. 2010. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 12 (1): 105-112.
- MARCONDES, C. B.; XIMENES, M. F. F. M. 2016. Zika vírus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 49(1): 4-10.
- MARTINS, L. M. A.; VIERIA, F. O. 2013. Alternativas para o controle biológico do agente transmissor da

dengue – *Aedes aegypti* L. **Acervo da Iniciação Científica.**

MOREIRA, C. P. S.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M. A. 2010. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* Boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. **Revista Eletrônica de Farmácia.** 7 (3): 16-27.

MWINE, J. T.; VAN DAMME, P. 2011. Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. **Journal of Medicinal Plants Research.** 5 (5): 652-662.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; ALVES, B. F. G. Z.; LOPES, J. C.; TUTUNJI, V. L. 2012. Absence of antimicrobial activity of *Euphorbia milii* molluscicidal látex. **Journal of Pharmaceutical Negative Results.** 3 (1): 13-15.

PANNEERSELVAM, C.; MURUGAN, K.; KOVENDAN, K.; KUMAR, P. M. 2013. Subramaniam J. Mosquito larvicidal and pupicidal activity of *Euphorbia hirta* Linn. (Family: Euphorbiaceae) and *Bacillus sphaericus* against *Anopheles stephensi* Linsto. (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.** 6 (2): 102-109.

PEREIRA, A. V.; JUNIOR, N. G. N.; TREVISAN, L. F. A.; RODRIGUES, O. G.; LIMA, E. Q.; MELO, M. A.; PEREIRA, M. S. V.; SILAN, L. N. M. P. 2013. Efeito ovicida e larvicida do extrato de *Azadirachta indica* sobre mosquito *Aedes Aegypti*. **Agropecuária Técnica,** 30 (2): 107-111.

RODRIGUES, M. M. 2013. **Abundância de *Aedes aegypti* e outros culicídeos adultos, em área urbana de município endêmico de dengue, São Sebastião, Litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil** [tese]. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo.

SANTOS, E. B.; FAVRETTO M. A.; D'AGOSTINI, F. M. 2013. Larvas de culicídeos no Parque Natural Municipal Rio do Peixe, Joaçaba, Santa Catarina. **Estudos da Fauna do Oeste de Santa Catarina: microrregiões de Joaçaba e Chapecó.** Campos Novos. Ed. dos Autores, p.69-86.

SOUZA, L. M. B. 2012. **Avaliação da ação inseticida de extratos vegetais, óleos essenciais e substâncias sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE), em condições de laboratório** [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná.