



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM  
CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Croton tetradenius* SOBRE LARVAS DE  
*Aedes aegypti* COM DESDOBRAMENTO PARA AS  
ANÁLISES DA VIABILIDADE LARVAL, PUPAL E A  
MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR.**

Penélop Barros Silva

Itapetinga - Bahia

Novembro - 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM  
CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* sobre larvas de *Aedes aegypti* com desdobramento para as análises da viabilidade larval, pupal e a morfometria geométrica alar.**

Autora: Penélop Barros Silva

Orientador: Dr. Paulo Sávio Damásio da  
Silva

Co-orientadora: Dra. Débora Cardoso Silva

**Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Área de concentração: Meio Ambiente e Desenvolvimento.**

Itapetinga - Bahia

Novembro - 2021

632.951

Silva, Penélop Barros.

S582a

Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* sobre larvas de *Aedes aegypti* com desdobramento para as análises da viabilidade larval, pupal e a morfometria geométrica alar. / Penélop Barros Silva. - Itapetinga: UESB, 2021.  
70f.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Área de concentração: Meio Ambiente e Desenvolvimento. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Paulo Sávio Damásio da Silva e coorientação da Profª. D. Sc. Débora Cardoso Silva.

1. *Aedes aegypti* –Inseticida – Larvas - Pupas. 2. *Croton tetradenius* - Óleo essencial - Inseticida. 3. *Aedes aegypti* - Morfometria geométrica alar. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. II. Silva, Paulo Sávio Damásio da. III. Silva, Débora Cardoso. IV. Título.

**CDD (21): 632.951**

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Catinga-de-bode - Óleo essencial - Inseticida
2. Velaminho-da-serra - Óleo essencial - Inseticida
3. Morfometria geométrica alar - *Aedes aegypti*
4. Caatinga



GOVERNO DO ESTADO DA BAHIA  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Programa Pós-Graduação em Ciências Ambientais - UESB/RTR/PPG/PPGCA

## PENÉLOP BARROS SILVA

“AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CROTON TETRADENIUS* SOBRE LARVAS DE *AEDES AEGYPTI* COM DESDOBRAMENTO PARA AS ANÁLISES DA VIABILIDADE LARVAL, PUPAL E MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* de Itapetinga, BA. Área de Concentração: Meio Ambiente e Desenvolvimento.

Aprovada em: 28/09/2021

### BANCA EXAMINADORA

\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Paulo Sávio Damásio da Silva Orientador/UESB)**

\_\_\_\_\_  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Gabriela Delgado Bieber (UESB)**

\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Rômulo Carlos Dantas da Cruz (UFPE)**



Documento assinado eletronicamente por **Romulo Carlos Dantas da Cruz, Usuário Externo**, em 29/11/2021, às 20:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 13º, Incisos I e II, do [Decreto nº 15.805, de 30 de dezembro de 2014](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Gabriela Delgado Bieber, Professor Substituto**, em 15/12/2021, às 17:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 13º, Incisos I e II, do [Decreto nº 15.805, de 30 de dezembro de 2014](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Sávio Damásio Da Silva, Professor Titular** em 15/12/2021, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 13º, Incisos I e II, do [Decreto nº 15.805, de 30 de dezembro de 2014](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://seibahia.ba.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_or\\_gao\\_acesso\\_externo=0](https://seibahia.ba.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_or_gao_acesso_externo=0), informando o código verificador **00039289210** e o código CRC

## AGRADECIMENTOS

Antes de ser formada, Tu já me conhecias e sabias que chegaria aqui, e, por isso, sou grata a ti, Senhor e também porque em meio ao caos minha fé prevaleceu.

Sou grata à minha mãe, M<sup>a</sup> Sílvia Barros Silva, a pessoa que mais de perto acompanhou todo o processo dessa caminhada, quem me manteve firme emocional e espiritualmente.

A meu pai, Paulo Antônio da Silva (in memoriam), quem sempre incentivou meus estudos e dizia que era “algo que ninguém jamais tomaria de mim”. Ele também permitiu a construção dessa etapa da minha vida.

A meu noivo, Weclis Freire Souza, por inúmeras vezes ter me escutado falar sobre minha pesquisa, das dificuldades e os desafios enfrentados. Quem me auxiliou muito só por estar perto e dar apoio.

A meu irmão, Albério Barros Silva, quem mesmo de longe acompanhou, sempre confundindo o mestrado com o doutorado, e torceu para tudo dar certo.

A meu orientador, Paulo Sávio Damásio da Silva, e minha co-orientadora, Débora Cardoso da Silva, e minha antiga orientadora Sandra Lúcia da Cunha e Silva que permitiram que esse projeto avançasse e também me tranquilizaram em muitos momentos durante esse e outros percursos.

A dois pesquisadores que contribuíram para que parte dessa pesquisa fosse realizada, Rodrigo Fornel (Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões) e Liu Idárraga Orozco (Universidad de La Plata – Argentina), talvez nem saibam o quanto foram fundamentais para mim, principalmente por não me conhecerem pessoalmente e atenderem meu chamado durante a quarentena da COVID-19.

Ao grupo LAPIN (Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais), pois cada dia de trabalho, cada café da manhã e conversas permitiram que eu e esse trabalho chegássemos firmes aqui.

Às minhas cunhadas, Caline Freire Souza e Bruna Moreira Barros, que com palavras doces e gentis me confortaram e me impulsionaram a prosseguir.

A todos os amigos, alguns de longas datas, outros recém-chegados. De modo especial à Roseliz Campelo Pacheco, Morgana Maria do Carmo, Daniel Lobo Souza e Carolina Viana, pois me ouviram por horas a fio e, ainda assim, me compreenderam e me permitiram sorrir, mantendo minha mente saudável.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio logístico e concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>3</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Distribuição do <i>Aedes agypti</i> (Linnaeus, 1762) e ocorrência da dengue.....	5
2.2 Principais casos de dengue no Brasil.....	7
2.3 Por que o combate à dengue não avança no Brasil?.....	9
2.4 As abordagens de controle do <i>Aedes aegypti</i> .....	10
2.5 Utilização de produtos químicos e os recursos naturais.....	12
2.6 Bioma Caatinga e a produção de metabólitos secundários: o uso de produtos naturais como alternativa sustentável no combate ao vetor <i>Aedes aegypti</i> .....	14
2.7 Caminhos a serem considerados no combate a dengue no Brasil.....	20
<b>3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>21</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>36</b>
1. Introdução.....	37
2. Material e Métodos.....	38
2.1 <i>Material botânico</i> .....	38
2.2 <i>Extração do óleo essencial</i> .....	39
2.3 <i>Avaliação larvicida</i> .....	39
2.4 <i>Viabilidade larval e pupal</i> .....	39
2.5 <i>Preparação das asas e aquisição dos dados para morfometria geométrica</i> .....	40
3. Resultados.....	41
3.1 <i>Avaliação larvicida</i> .....	41
3.2 <i>Viabilidade larval e pupal</i> .....	42
3.3 <i>Análise da morfometria geométrica</i> .....	43
Tabela 3. Resultados estatísticos das análises de variáveis canônicas (AVC).....	43

<b>4. Discussões.....</b>	<b>44</b>
<b>5. Conclusão.....</b>	<b>45</b>
<b>Referências.....</b>	<b>45</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO II.....</b>	<b>48</b>



## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
<b>Capítulo I</b>	
Tabela 1. Percentual de mortalidade de larvas do <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Croton tetradenius</i> Baill.....	<b>41</b>
Tabela 2. Percentual de viabilidade larval e pupal do <i>Aedes aegypti</i> em relação ao óleo essencial de <i>Croton tetradenius</i> . .....	<b>42</b>
Tabela 3. Resultados estatísticos das análises de variáveis canônicas (AVC).....	<b>43</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Fluxograma apontando os principais pontos do avanço da dengue no país....	<b>36</b>
 <b>Capítulo I</b>	
<b>Figura 1.</b> <b>A)</b> Interface do software tpsDig com os 18 pontos de referências as asas do <i>Aedes aegypti</i> . <b>B)</b> Descrição dos pontos de referências.....	<b>40</b>
<b>Figura 2.</b> Espaço morfológico produzido pela (CVA) de <i>Aedes aegypti</i> baseado na variação da forma de asa em relação as concentrações do óleo essencial.....	<b>43</b>
<b>Figura 3.</b> Regressão multivariada da forma da asa do <i>Aedes aegypti</i> .....	<b>45</b>

## RESUMO

BARROS-SILVA, P. **Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* sobre larvas de *Aedes aegypti* com desdobramento para as análises da viabilidade larval, pupal e a morfometria geométrica alar.** Itapetinga - BA: UESB, 2020. 70p. (Dissertação – Mestrado em Ciências Ambientais – Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento)\*

O mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), nativo da África Oriental, está atualmente presente em todo mundo, e isso se deve principalmente a ações antrópicas. A rápida dispersão desse culicídeo favorece o aumento de doenças, como a dengue. O objetivo desse trabalho foi avaliar ação inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) sobre larvas, pupas e a morfometria geométrica alar do *Ae. aegypti*. Inicialmente foi realizada a extração do OE da parte aérea de *C. tetradenius* através do processo de hidrodestilação com o extrator de Clevenger industrial. Para avaliação larvicida, utilizou-se larvas do terceiro e quarto instar do *Ae. aegypti*, com seis concentrações (1,0; 0,50; 0,25; 0,125; 0,062; 0,031 mg mL<sup>-1</sup> e grupo controle) com cinco repetições. Para análise da viabilidade larval e pupal, utilizou-se as larvas sobreviventes à exposição do OE, as quais foram lavadas e individualizadas em tubos de ensaios, sendo acompanhadas até a fase adulta. Após a emergência de todos os insetos, os mesmos foram sacrificados. Para aquisição dos dados morfométricos, as asas esquerdas de todos os mosquitos foram removidas e fotografadas, admitindo 18 pontos anatômicos. O capítulo I comprovou a natureza tóxica do OE de *C. tetradenius* sobre o mosquito. A concentração de 1mg mL<sup>-1</sup> ocasionou 100% de mortalidade larval nas primeiras 2 horas de exposição; 0,5 mg mL<sup>-1</sup> demonstrou ser tóxico a 80% das larvas, no mesmo período observado; as soluções de 0,25 e 0,125mg mL<sup>-1</sup> causaram 29,33% e 37,33% de mortalidade em 24 horas, respectivamente, contudo, não diferiram dos menores tratamentos (0,062 e 0,031mg mL<sup>-1</sup>); as menores soluções e o grupo controle não ocasionaram mortalidade em nenhum período de exposição ao OE. Em relação à viabilidade larval e pupal, apenas a concentração de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> diferiu dos grupos controles em ambas as categorias, apresentando mais de 80% de viabilidade larval e pupal. Quanto a morfometria geométrica, as análises revelaram diferença entre a forma das asas dos mosquitos que foram expostos ao OE de *C. tetradenius* sobre aqueles que não tiveram contato com o OE. Possivelmente, os constituintes presentes no OE dessa espécie vegetal podem ter alterado a estrutura alar dos insetos, reforçando a perspectiva do OE ser utilizado de maneira integrada em programas de controle sobre o *Ae. aegypti*.

**Palavras-chave:** Controle sustentável, culicidae, toxicologia.

---

\*Orientador: Dsc. Paulo Sávio Damásio da Silva, UESB e Co-orientadora: Dsc. Débora Cardoso da Silva, UESB.

## ABSTRACT

### **Evaluation of the insecticidal activity of the essential oil of *Croton tetradenius* on *Aedes aegypti* larvae with deployment for the analyses of larval and pupal viability and the geometric alar morphometry.**

The *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). mosquito, native of East Africa, is currently present all over the world, and this is mainly due to anthropic actions. The rapid dispersion of this culicide favors the increase of diseases such as dengue. The aim of this work was to evaluate the insecticidal action of the essential oil of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on larvae, pupae and the geometric alar morphometry of *Ae. aegypti*. Initially the EO was extracted from the aerial part of *C. tetradenius* was made through the process of hydrodistillation with the industrial Clevenger extractor. For larvicidal evaluation, third and fourth instar larvae of *Ae. aegypti* were used, with six concentrations (1.0; 0.50; 0.25; 0.125; 0.062; 0.031 mg mL<sup>-1</sup> and control group) with five repetitions. For analysis of larval and pupal viability, we used the larvae that survived the exposure to EO, which were washed and individualized in test tubes, being followed until the adult stage. After the emergence of all insects, they were sacrificed. For acquisition of morphometric data, the left wings of all mosquitoes were removed and photographed, admitting 18 anatomical points. Chapter I proved the toxic nature of *C. tetradenius* EO on mosquitoes. The concentration of 1mg mL<sup>-1</sup> caused 100% larval mortality in the first 2 hours of exposure; 0.5mg mL<sup>-1</sup> was toxic to 80% of the larvae in the same period; the 0.25 and 0.125mg mL<sup>-1</sup> solutions caused 29.33% and 37.33% mortality in 24 hours, respectively, however, they did not differ from the smallest treatments (0.062 and 0.031mg mL<sup>-1</sup>); the smallest solutions and the control group did not cause mortality in any period of exposure to the EO. Regarding larval and pupal viability, only the concentration of 0.125 mg mL<sup>-1</sup> differed from the control groups in both categories, showing more than 80% of larval and pupal viability. As for geometric morphometry, the analyses revealed a difference between the shape of the wings of the mosquitoes that were exposed to the EO of *C. tetradenius* over those that had no contact with the EO. Possibly, the constituents present in the EO of this plant species may have altered the wing structure of insects, reinforcing the prospect of the EO being used in an integrated way in control programs on *Ae. aegypti*.

**Keywords:** Culicidae, sustainable control, toxicology.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), predominantemente encontrado em áreas tropicais e subtropicais do globo, tem sido considerado um grande problema na saúde pública atual (BHATT et al., 2013). O mosquito é o vetor primário de arboviroses consideradas importantes epidemiologicamente, como os vírus da dengue, febre amarela urbana, chikungunya e Zika (BRADY et al., 2014; GUAGLIARDO et al., 2014). Dentre mais de 500 espécies de arbovírus conhecidos (CDC, 2014), a dengue é conceituada como a principal doença viral transmitida por artrópodes do mundo (BHATT et al., 2013; WHO, 2012). Os sorotipos virais da dengue são encontrados em 128 países, classificados assim como zonas endêmicas da doença (HOTEZ et al., 2014). Considerando a população desses países, há diariamente 4 bilhões de pessoas em risco de contaminação por dengue (BHATT et al., 2013).

No Brasil, nos últimos anos, tem sido observado um crescimento nos casos de dengue, mesmo havendo grande investimento por parte do governo no combate a essa arbovirose (SALES, 2020). Por exemplo, em 2010 31 milhões de reais foram utilizados para hospitalização de cerca de 100 mil casos da doença (LORENZ et al., 2020). Essa arbovirose comumente têm um padrão sazonal de aparecimento a cada três, cinco anos (DICK et al., 2012), onde no período de 2019 e no primeiro trimestre de 2020, houve um aumento progressivo de casos de dengue nas cidades brasileiras, totalizando 2,1 milhão de registros (BRITO et al., 2021). Curiosamente, no primeiro trimestre de 2020 o número de notificações por dengue foi reduzido, e esse fato pode estar atrelado, provavelmente, a subnotificação de casos, uma vez que tal notificação diminuiu a partir do período em que se iniciaram as ações contra o espalhamento do novo coronavírus sars-cov-2 (COVID-19), onde ocorreram alterações significativas na mobilização da vigilância epidemiológica (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020; DOS SANTOS LEANDRO et al., 2020). Por exemplo, houve a interrupção das visitas intradomiciliares, promovidas por agentes comunitários de endemias (RODRIGUEZ-

MORALES et al., 2020; DOS SANTOS LEANDRO et al., 2020), cuja finalidade é o combate do vetor através de aplicação de larvicidas e eliminação dos criadouros artificiais (WEAVER et al., 2018).

Além disso, a ampla ocorrência dos vírus da dengue também está associada à alta adaptabilidade dos mosquitos aos ambientes urbanizados (BRADY et al., 2014; GUAGLIARDO et al., 2014). Assim como o hábito diurno do mosquito, o que pode ter facilitado o contato desse vetor com os seres humanos (WEAVER et al., 2018) e as limitações das medidas de controle da dengue no país (KANTOR et al., 2018).

Em relação às abordagens de controle sobre o *Ae. aegypti*, o controle populacional do mosquito é considerado uma estratégia crucial no combate às arboviroses (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010; ROIZ et al., 2018). Este método tem sido realizado através de inseticidas sintéticos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010), e por inseticidas naturais (MOSSA et al., 2018). Os inseticidas sintéticos são considerados as principais ferramentas de controle empregadas no Brasil. No entanto, esses elementos químicos sintéticos apresentam baixa seletividade, aceleram o aparecimento de populações de mosquitos resistentes e provocam danos ao meio ambiente (BRAGA; VALLE 2007; CAMPOS et al., 2019; DE SOUZA et al., 2019; WORKMAN et al., 2020; ZARA et al., 2016) e, conseqüentemente, à saúde do ser humano (MOSSA et al., 2018; WORKMAN et al., 2020).

Por outro lado, os inseticidas oriundos de espécies botânicas podem ser um método alternativo bastante viável e eficiente para o controle do *Ae. aegypti*. Pois, inseticidas naturais apresentam biodegradação natural, com baixo impacto ambiental (SOARES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014), no mais, retardam o aparecimento de mecanismos de resistência dos mosquitos aos compostos (GARCEZ et al., 2013; HORTA et al., 2011). E isso se deve a grande quantidade de moléculas químicas presentes nesses produtos de origem botânica (CHELLAPPANDIAN et al., 2018; GUPTA; DIKSHIT, 2010; SRIJITA, 2015), resultando em segurança para mamíferos (DA CRUZ et al., 2020) e conseqüentemente segurança humana (USEPA, 2010).

Um exemplo de inseticidas de origem vegetal são os óleos essenciais (OEs) (MOSSA et al., 2018; USEPA, 2015). Esses óleos vêm sendo pesquisados devido a suas propriedades fitoterápicas (ARAÚJO et al., 2014; RAMOS et al., 2013; DO NASCIMENTO MAGALHÃES et al., 2019) e a seu elevado potencial inseticida (DA CRUZ et al., 2017; CHELLAPPANDIAN et al., 2018; ANJOS et al., 2018; DE SOUZA et al., 2019; DA CRUZ et al., 2020). OEs de espécies vegetais do gênero *Croton*

(Euphorbiaceae), por exemplo, podem ser promissoras, especialmente, no que se refere ao potencial contra insetos (CUNHA et al., 2014), haja vista que produzem diversas substâncias bioativas (SALATINO et al., 2007) das quais foram comprovadas a toxicidade de *Croton* sobre o *Ae. aegypti* (DE CARVALHO et al., 2016; DA CRUZ et al., 2017; DE SOUZA et al., 2019).

Diante da já confirmada atividade inseticida sobre o *Ae. aegypti* por espécies de *Croton*, a exemplo de *Croton tetradenius* (e.g., ação larvicida, aduicida (DE CARVALHO et al., 2016); e efeito pupicida (DE LIMA et al., 2013), resta ainda estudar a viabilidade larval e pupal e aplicar métodos capazes de mostrar possíveis alterações morfológicas causadas pelos OEs de *Croton* spp. sobre o mosquito nas diferentes fases do ciclo de vida, o que, possivelmente, poderia também indicar um efeito deletério também sobre o desenvolvimento biológico.

Assim, este estudo, teve como objetivo principal, avaliar a ação inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* sobre larvas, pupas e analisar a morfometria geométrica alar do *Aedes aegypti*. Em detalhes, analisamos (1) quais concentrações foram mais letais, (2) se houve alguma alteração no tempo de mudança de fases biológicas em relação às larvas sobreviventes ao óleo e (3) se os insetos que alcançaram a fase adulta apresentaram alguma alteração nos pontos anatômicos de referência (*landmarks*) nas veias das asas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Distribuição do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e ocorrência da dengue

Os arbovírus da dengue pertencem à família Flaviviridae e gênero *Flavivirus*, transmitidos através de picada de mosquitos fêmeas infectadas do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), seu principal vetor, e, em menor escala, o *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (MAYER et al., 2016). O mosquito *Ae. aegypti* se destaca por apresentar alta competência vetorial e grande capacidade de se adaptar ao meio urbano, já o *A. albopictus*, embora também seja predominantemente urbano, tem apresentado

expansão maior em zonas rurais (BRADY et al., 2014; GUAGLIARDO et al., 2014) de ambientes temperados (LEISNHAM; LADEAU et al. 2014).

Devido a sua alta frequência e rápido crescimento de casos, a dengue é considerada como a principal infecção causada por artrópodes no mundo (PANG et al., 2017). Embora mais de 500 arboviroses já tenham sido identificadas, e destas, 150 se relacionem com o homem (HAMILTON, 2016), a dengue é um dos maiores problemas na saúde pública mundial, avançando uma taxa de crescimento de 400% em apenas 13 anos (2000–13). Além dos altos índices de ocorrência da doença, em poucos anos, o custo mundial com a dengue também foi bastante alto, o equivalente a US\$ 8,9 bilhões no ano de 2013 (SHEPARD et al., 2016).

Em razão da distribuição geográfica do vetor, caracterizada pela predominância do em zonas tropicais e subtropicais do planeta (WHO, 2017), a dengue se enquadra como endêmica em 128 países, com cerca de 390 milhões de pessoas infectadas por ano, e próximo a 4 bilhões com risco de serem infectadas pelos quatro sorotipos virais da doença (DENV 1 – DENV 4), (BRATT et al., 2013; HOTEZ et al., 2014). Há ainda relatos de um quinto sorotipo da dengue, cuja análise filogenética comprova a distinção entre os demais vírus, no entanto, sinaliza semelhanças entre os DENV 2 e 3. Atualmente não há registros da circulação da DENV 5 em humanos, estando associado apenas a macacos nas florestas de Bornéu (MUSTAFA et al., 2015). Apesar disso, as demais infecções virais da dengue possuem ampla ocorrência, as quais evoluíram de um simples caso esporádico da doença para um grande problema de saúde pública no mundo (CHEN e LIU, 2015; SINGH et al., 2020; VEGA-RUA et al., 2014).

Os primeiros registros de casos clínicos bastantes semelhantes ao vírus da dengue ocorreram há séculos. Inicialmente, relatos de infecções da dengue foram publicados em uma enciclopédia médica chinesa datada de 610, 992 (a.C.) e republicados em 265-420 (d.C.), em que a doença foi relacionada a “veneno da água” e conectada a insetos voadores (GLUBER, 2006; MURRAY et al., 2013). A partir de 1600 (d.C.), surgiram epidemias virais com características compatíveis com a dengue em todo mundo: 1635, nas Antilhas Francesas; 1699, no Panamá; 1780 na Filadélfia e 1945 em Nova Orleans (NUNES, 2011; MURRAY et al., 2013).

Nas Américas, após mais de um século, a doença que era, até então, considerada de caráter benigno registrou a ocorrência de um tipo hemorrágico, que se diferencia dos demais vírus pela sua gravidade de poder ser letal ao ser humano (GUZMAN et al., 1984). Nos últimos 50 anos, a incidência da dengue aumentou cerca de 30 vezes (WHO,



2012), e em 2012 o número superou três vezes mais do que era esperado (BHATT et al., 2013), registrando nas Américas a maior epidemia da história, com um total de 2,3 milhões de casos notificados (PAHO, 2015). Até maio de 2020, os países das Américas registraram mais de 2 milhões de casos da doença, e o Brasil foi responsável por 65% dessas notificações (PAHO, 2020).

## 2.2 Principais casos de dengue no Brasil

Inicialmente, uma doença clinicamente compatível com a dengue foi mencionada pela primeira vez no Brasil em 1844-1849, e mais tarde, a palavra dengue foi relatada em 1916 no sul do país (MARIANO, 1917). Em 1923, em Niterói, foi descrita uma epidemia de dengue, com muita riqueza de detalhes clínicos. Após isso, o *Ae. aegypti* foi considerado erradicado do Brasil por duas vezes durante os anos de 1958 a 1973 (SOPER, 1965; FRANCO, 1969; NOBRE et al., 1994). Contudo, em virtude de uma nova expansão geográfica do vetor em 1976 no país (TAUIL, 2001/2002; MACIEL et al., 2008) houve um crescimento nos números de casos de dengue com primeiros registros da reintrodução do mosquito na Bahia e novamente no Rio de Janeiro em 1977 (DE SOUZA, 2008).

Em 1978-1980 surgiu uma disseminação epidêmica da dengue tipo I em alguns países da América do Sul, posteriormente chegando ao Brasil em 1981 na cidade de Boa Vista, em Roraima. Entretanto, depois dos surtos dos sorotipos I e II serem relatados, os vírus foram eliminados rapidamente por meio de medidas efetivas de controle do vetor (BRAGA e VALLE, 2007). Posteriormente a um período de dormência da epidemia, a DEN-1 invadiu o sudeste (Rio de Janeiro) e nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais e Pernambuco) do país em 1986-1987, momento que a dengue atraiu atenção na epidemiologia (BRAGA e VALLE, 2007; DONALÍSIO, 1999; SCHATZMAYR et al., 1986). No entanto, até os anos 1990, os vírus se proliferaram pelos estados brasileiros com surtos periódicos, quando a DEN-2 se alastrou novamente no estado do Rio de Janeiro (BRAGA e VALLE, 2007).

Após o colapso de campanhas de Combate ao *Ae. aegypti* na década de 70 e mais tarde em 1997 e a pouca importância dada pela saúde pública a doenças emergentes provocadas por vírus (GUBLER et al., 2006; GUBLER e VASILAKIS, 2016), uma nova distribuição vetorial surgiu e foi considerada praticamente a mesma que em 1940, permitindo que o mosquito da dengue se reintroduzisse em áreas que a erradicação

havia sido anteriormente considerada controlada (DE SOUZA, 2008). Ainda no ano de 1997 mais de 250 mil casos da doença ocorreram nas Américas, sendo na grande maioria notificações do Brasil, e no ano seguinte, ocorreu um aumento elevado de relatos de dengue com 500 mil casos nas Américas, em que somente a região brasileira alcançou 430 mil desses registros (DE SOUZA, 2008).

Nos anos 2001-2003, foram notificados 1.564.112 casos de dengue no país, sendo 4.123 na forma hemorrágica e destes, 217 foram casos letais (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2006). Ainda em 2001, o país notificou mais casos de dengue do que qualquer outro país, cerca de 11 milhões até o ano de 2016, com aproximadamente 2 milhões de casos separadamente em cada um desses períodos. Somente o intervalo do período de 2013 a 2015 foram notificados cerca de 5 milhões de casos de dengue em território brasileiro, número que superou os registros da doença da década passada (WHO, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Nesse intervalo, o ano de 2013 foi considerado o de maior transmissão dos vírus, registrando praticamente 1,5 milhão de casos até o mês de julho (BRASIL, 2014).

O país se destacou mais uma vez no índice epidemiológico do período que compreende os anos de 1995 a 2015, apresentando mais de 55% do registro de dengue relacionado aos 14 milhões de casos confirmados na América do Sul (PAHO, 2017). Entre 2014 e o primeiro semestre de 2016, foram confirmados mais de 33 mil casos de dengue no país, onde o ano de 2016 ficou marcado, portanto, por grandes surtos da dengue em todo mundo, especialmente nos países das Américas, que juntos foram responsáveis por mais de 2,38 milhões de casos. No entanto, o Brasil se sobressaiu novamente nos registros epidêmicos desse cenário, concentrando o maior número de óbitos no período, em que somente no estado de São Paulo ocorreu mais de 50% de mortes por dengue (OPAS, 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Em outubro de 2018, dos 13 países pertencentes às Américas que relataram um aumento da concentração de casos da dengue em seus territórios, um total de 2.190 casos, o país ficou entre os quatro primeiros dentro desses registros de epidemiologia (PAHO/WHO, 2018) apresentando no período de 30 de dezembro a 16 de março desse mesmo ano, um aumento de 67% no número de mortes por dengue, equivalente a uma taxa de aumento relativo de 487,4% de casos prováveis da doença sobre a população, com maior incidência no estado de Minas Gerais - 2.278,3 de casos por 100.000 habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; PAHO, 2020a).

O período de 2019 contabilizou o maior número de casos de dengue já registrado nas Américas (3,14 milhões) (PAHO, 2020a). Entre a última semana de 2019 a 24 de maio de 2020 ocorreram mais de 2 milhões de casos epidemiológicos dos vírus da dengue nessa região, equivalente a 164,18 infecções cumulativas por 100.000 habitantes. O Brasil se ocupou a posição de terceiro lugar com 20.543 casos que compuseram 7,5% do total de notificações dentro do intervalo de 30 de dezembro de 2018 a 23 de março de 2019 (BRASIL, 2019). Atualmente, até a semana epidemiológica 24 do ano de 2021, o país já registrou 671,732 casos de dengue, com 144 vítimas (PAHO, 2021).

### **2.3 Por que o combate à dengue não avança no Brasil?**

Mesmo havendo investimentos das instituições de saúde do governo para combate ao vetor, a dengue continua avançando no Brasil. Isso pode estar relacionado, primeiramente, devido ao padrão de proliferação da doença que ocorre a cada 3-5 anos, o que torna a epidemia da dengue desafiadora, principalmente nos países das Américas, no qual a região brasileira faz parte (DICK et al., 2012). Nesse contexto, os registros de casos da dengue no país são ainda mais alarmantes, como revelam os boletins epidemiológicos, com 1.487.924 de casos registrados, dos quais resultaram em 833 mortes nos últimos três anos (LUZ et al., 2020). Esses dados podem ocorrer pelo fato de o Brasil fazer parte dos países onde não se tem uma verdadeira compreensão sobre a doença (BHATT et al., 2013) onde, por exemplo, a dengue pode ser confundida com outras patologias que são clinicamente semelhantes, e de modo contrário, também podem existir as subnotificações.

Em segundo lugar, o avanço de doenças virais como a dengue se mostra mais notório em áreas de vulnerabilidade social, sobre populações que vivem em situações de pobreza, aglomerações (HORTA et al., 2013; MASCARENHAS et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2015), baixa escolaridade e com mínimas ou ausentes condições de infraestrutura urbana, a citar, em especial, saneamento básico, frequente escassez de água e residências próximas a lixões (DOS SANTOS LEANDRO et al., 2020). O agravamento de casos da dengue também se relaciona com o crescimento desordenado das cidades e o uso, descarte e coleta de lixo de modo irregular (DOS SANTOS LEANDRO et al., 2020., BRASIL, 2020) (**Figura 1/ANEXO 1**).

Tais aspectos socioeconômicos e alterações nas paisagens influenciam na expansão do mosquito na área urbana (MENDONÇA et al., 2009; PAIXÃO et al., 2015) e maior risco de dengue. O que evidencia que a transmissão dos vírus da dengue não está condicionada apenas com a presença do vetor *Ae. aegypti* próxima às residências, mas também se relaciona com altos níveis de precipitação, temperatura elevada, periferias urbanas e baixa renda (BHATT et al., 2013). Nesse sentido, é fundamental mais estudos sobre a relação de transmissão de doenças em relação a diferentes classes sociais, a inclusão da educação em saúde dentro de comunidades mais vulneráveis, bem como maximizar o acesso as abordagens de controle através das mídias conjuntamente com estratégias de intervenções de vigilância e o controle vetorial (GUZMAN e HARRIS, 2015; WILDER-SMITH et al., 2015), pois somente com essas práticas reunidas e continuadas é possível enfrentar essa e outras enfermidades transmitidas pelos mosquitos *Ae. aegypti*

#### **2.4 As abordagens de controle do *Aedes aegypti***

Na última década, muitos avanços significativos no desenvolvimento de vacinas contra mosquitos transmissores de patógenos foram realizadas (HUANG et al., 2017). E, embora tenha se desenvolvido uma vacina contra o vírus da dengue, é eminente a necessidade de suprir as lacunas imunológicas existentes, se tratando preferencialmente de aplicação em indivíduos pertencentes aos extremos das faixas etárias, grávidas e imunocomprometidos. Diante disso, o controle populacional de vetores ainda é a estratégia mais eficaz para combate e prevenção de doenças causadas por mosquitos (HUANG et al., 2017), o que permite empregar diferentes metodologias, como mobilização social, manejo ambiental, controle biológico (BRAGA e VALLE, 2007), genético e químico (FUNASA, 2002; WHO, 2012; MARTINS, 2013).

Em relação a essas metodologias, a de mobilização social é pautada em campanhas de divulgação vinculada as secretarias de saúde em conjunto com entidades municipais. Esta estratégia, reunida a práticas educativas (mídia, cartazes, painéis, folhetos ou palestras em escolas e outros núcleos sociais (CLARO et al., 2004), permite ampliar o conhecimento da população, a cerca de vetores que transmitem arbovirose, e possibilita o cuidado individual (WERMELINGER et al., 2013). Isto interfere diretamente na proliferação da doença, reduzindo a oferta dos criadouros

(WERMELINGER et al., 2013) e, conseqüentemente, o impacto de transmissão de doenças por vetores (OLLIARO et al., 2018).

Outra metodologia, é o manejo ambiental, que consiste no uso de telas de proteção em janelas ou portas, manutenção de calhas e caixas d'água, coleta e destino adequado de resíduos sólidos urbanos (BRAGA; VALLE, 2007). Esse método tem como objetivo a eliminação dos possíveis criadouros artificiais do vetor, impedindo o contato do homem com o mosquito (BRAGA; VALLE, 2007; ZARA et al. 2016). A implementação dessa abordagem aliada à sensibilização social e campanhas educativas, citadas anteriormente, se tornam efetivas no combate a doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti*. Contudo, podem ser ineficientes dadas a necessidade do engajamento de vários setores da sociedade e atuação combinada a um bom saneamento básico nos domicílios. E, além disso, necessita de ações que aconteçam de maneira frequente para garantia sustentável desses métodos em sinergismo (MACIEL et al., 2008).

Além dessas, há também o controle biológico que visa basicamente a predação de organismos naturais ou patogênicos como medida de contenção populacional de vetores (FORATTINI, 2002). Fazendo o uso de predadores naturais, como peixes que se alimentam exclusivamente de larvas, *Poecilia reticulata* Peters, 1859 e *Betta splendens* Regan, 1910 (DONALÍSIO e GLASSER, 2002; FORATTINI, 2002). Cujas espécies são frequentemente utilizadas, fáceis de obtenção e manipulação, o que permite aplicar a técnica em ambientes como piscinas abandonadas, depósito de água não potável, fossa de elevador e fontes ornamentais (DONALÍSIO e GLASSER, 2002; FORATTINI, 2002). Adicionalmente, se pode aplicar a esse método, organismos que liberam agentes tóxicos e afeta o desenvolvimento de estágios imaturos de mosquitos, como é o caso das bactérias do gênero *Bacillus*, como *Bacillus thuringiensis israelensis* Var, 1979 (Bti) e o *Bacillus sphaericus* Neide, 1593 que ao produzirem toxinas, atuam como opções larvicida vantajosa sobre o *Ae. aegypti* (OOTANI et al. 2011; FERREIRA et al., 2013).

Assim sendo, o controle biológico é uma ferramenta considerada de baixo impacto ambiental, pois atinge apenas o organismo alvo - o mosquito. No entanto, possui um viés desvantajoso, pois o resultado não é visualizado de maneira imediata, necessitando de planejamento e gerenciamento intensivo aliado a compreensão da biologia do vetor (CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003, HUANG et al, 2017) e requer a necessidade de utilização do método de maneira rotineira no lugar de episódios de emergência (ROIZ et al., 2018).

Outra técnica, estabelecida para controle de mosquitos como *Ae. aegypti*, é a técnica dos insetos estéreis – SIT (BOND et al., 2019). Esse método envolve a liberação de um número elevado de machos estéreis no ambiente, e devido a sua abundância em comparação com os mosquitos selvagens férteis, superam as oportunidades de acasalamento com as fêmeas selvagens (KNIPLING, 1979; DYCK et al., 2005) Esse método de esterilização através de irradiação em laboratório é considerado eficaz, seguro do ponto de vista ambiental (KNIPLING, 1979; DYCK et al., 2005) de custo e eficiência (BOND et al., 2019). Em contrapartida, o futuro desses insetos na natureza é incerto, tal como os impactos sobre a cadeia alimentar.

Há também a modificação genética, que compreende na alteração no DNA do mosquito, resultando em machos inférteis (CARVALHO et al., 2014). Os machos modificados geneticamente, quando lançados no ambiente e ao copular com fêmeas selvagens levarão genes deletérios a prole, ocasionando em larvas que não atingirão a fase adulta (CARVALHO et al., 2014). Esta última abordagem é igualmente eficaz, porque permite diminuir o tamanho populacional do vetor (ZARA et al., 2016), entretanto, requer um rigoroso processo de acompanhamento em laboratório e ainda não se sabe ao certo sobre o modo de mutação desses organismos transgênicos a longo prazo (CARVALHO, 2014; VALLE et al., 2016). Além disso, os impactos decorrentes desses insetos geneticamente modificados soltos na natureza podem ser significativos à biodiversidade (OSTERA et al., 2011; BRASIL, 2014).

Com isso, nas últimas décadas, o controle entomológico se tornou o recurso mais empregado sobre o vetor *Ae. aegypti*, que visa a eliminação dos prováveis criadouros de larvas em águas artificiais e/ou descartáveis, baseado na aplicação de inseticidas químicos sintéticos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010; WHO, 2012). Todavia, devido à ampla utilização desses produtos sintéticos e do seu uso desenfreado, diversos autores têm mencionado as consequências danosas ao meio ambiente e a saúde do homem (RAO et al., 1999; ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008; XI et al., 2014; MOSSA et al., 2018). Portanto, é eminente a busca e o desenvolvimento sustentável através de novos métodos de controle sobre o *Aedes aegypti*.

## **2.5 Utilização de produtos químicos e os recursos naturais**

A utilização de pesticidas sintéticos é uma prática bastante comum e amplamente difundida no mundo com vistas ao controle de espécies indesejadas na

sociedade, como vetores de arboviroses que transmitem doenças ao homem (ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008). Entende-se por pesticida qualquer substância ou mistura de compostos cuja finalidade é prevenir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga (ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008). Nessa condição, todavia, a palavra “pesticidas” designa vários tipos de pesticidas, como inseticidas, herbicidas, bactericidas, nematocidas, acaricidas, fungicidas e outros, sendo cada um destes um ativo contra pragas específicas como inseto, etc (MOSSA et al 2018).

A aplicação contínua e exagerada desses produtos químicos sintéticos - tais como os piretroides e neonicotinóides - representam um dos inseticidas mais empregados comercialmente no mundo (GOULSON et al., 2013; TROCZKA 2013). O que pode resultar no acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, solo, ar e água (CAMPOS et al., 2019), bem como acelerar e apresentar alto nível de desenvolvimento de resistência de insetos (CAMPOS et al., 2019; HORTA et al., 2011) em várias regiões do país (PROPHIRO et al., 2011, TEIXEIRA et al., 2011).

Os produtos sintéticos também podem se acumular no solo, e podem ser transportados por lixiviação e escoamento superficial, podendo provocar hidrólise, fotólise, degradação química e também interagir com a microbiota do solo (ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008; CHAPLAIN et al., 2011; KOOKANA et al., 1998; SALAZAR-LEDESMA et al., 2018), contaminando o ambiente terrestre e aquático, trazendo riscos à saúde animal e humana (XI et al., 2014).

Além do mais, podem causar alterações nos processos químicos e sobre os micro-organismos do solo e perturbar os processos da atividade enzimática, interromper a simbiose entre micorrizas e as raízes de legumes, e, conseqüentemente, modificar a fertilidade do solo (MALIK et al., 2017). Os inseticidas sintéticos podem ainda afetar organismos não alvos, como aves e peixes (RAO et al., 1999).

Evidentemente, o sinergismo desses e outros fatores geram contaminação ambiental, causando assim, conseqüências adversas aos sistemas bióticos e a saúde dos seres humanos (MOSSA et al., 2018). Essa problemática é considerada de grande relevância mundial (BHATT et al., 2013; WHO, 2012), devido, principalmente, a frequência na utilização desses produtos (BRAGA e VALLE, 2007). Diante disso, se faz necessário a utilização de alternativas de controle biodegradáveis, que atinja apenas organismos de interesse e, também, não cause danos à saúde do homem.

As principais categorias de inseticidas naturais são botânicas, sabões e óleos, minerais, microbianos e bacterianos (MOSSA et al., 2018, USEPA,2015), em que no

início desse século foi vendido cerca de 1.400 de produtos inseticidas naturais, somando aproximadamente 2,5% da venda total de pesticidas (MARRONE 2007; CHANDLER et al., 2011). Apesar da baixa representatividade comercial, os inseticidas naturais se apresentam mais vantajosos comparados aos inseticidas químicos sintéticos, visto que possuem baixo efeito residual sobre o ecossistema (SOARES et al., 2015) e maior seletividade, devido a diversidade dos seus componentes bioativos (GARCEZ et al., 2013; HORTA et al., 2011).

Inseticidas vegetais também são aliados no controle integrado do vetor *Ae. aegypti* e representa uma alternativa menos impactante para o ambiente (CUNHA et al., 2014). Estudos têm comprovado a toxicidade de produtos de origem vegetal contra insetos, a exemplo dos OEs (AKHTAR et al. 2012), cuja utilização sobre *Ae. aegypti* também já pode ser observada, comprovando ser tóxico em diferentes fases de desenvolvimento do vetor (SILVA et al., 2020; DA CRUZ et al., 2017; DE CARVALHO et al., 2016), além de apresentar eficácia em retardar os mecanismos de resistência dos mosquitos (STRODE et al., 2012; GAMBARRA et al., 2013; GARCEZ et al., 2013; PEREIRA et al., 2014).

Com isso, a utilização de produtos baseados em inseticidas de origem botânica pode ser considerada como uma opção “ambientalmente sustentável” no controle do vetor *Ae. aegypti*. Além de ocasionar menor risco de contaminação ambiental em relação aos inseticidas sintéticos (USEPA, 2010), o uso destas plantas, quanto ao seu potencial de produção de óleos essenciais, no desenvolvimento de produtos de uso humano e animal, certamente vão valorizar os recursos naturais e, conseqüentemente, deve estimular programas de manejo e conservação. Neste cenário, trabalhos com especial foco nas espécies endêmicas serão fundamentais para avançar os estudos quanto ao conhecimento e uso destas plantas como inseticidas naturais.

## **2.6 Bioma Caatinga e a produção de metabólitos secundários: o uso de produtos naturais como alternativa sustentável no combate ao vetor *Aedes aegypti***

O bioma da Caatinga, extensão exclusivamente brasileira, possui cobertura vegetal marcada por formações xerófilas muito diversificadas, alto endemismo e apresenta elevado potencial medicinal (LEAL et al., 2003). Espécies vegetais endêmicas podem produzir compostos bioativos (metabólitos secundários), e esse bioma apresenta irregularidades pluviométricas, que se relaciona diretamente com essa produção de



compostos (SILVA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014). Atualmente, cerca de 27 milhões de pessoas residem na região da Caatinga, em que 80% da área original do bioma foi alterado principalmente através de desmatamento e queimadas (DO NASCIMENTO MAGALHÃES et al., 2019).

As alterações antrópicas nesse ambiente extremamente endêmico e heterogêneo coloca esse bioma como um dos menos valorizados (COE et al., 2017). Ainda assim, o ambiente possui imensa potencialidade para a conservação de serviços ambientais, uso sustentável e bioprospecção, que pode contribuir efetivamente para o desenvolvimento local e nacional (CREÃO-DUARTE et al., 2012).

A biodiversidade florística da Caatinga constitui uma rica fonte de pesquisa, apresentando muitos exemplares promissores avaliados e a serem avaliados quanto ao seu efeito tóxico sobre determinados organismos de interesse sanitário (SALATINO et al., 2009). As famílias Fabaceae, Cactaceae, Lamiaceae e Euphorbiaceae recebem destaque quanto ao uso medicinal nessa região (ROQUE, 2010). Além dessas, outras famílias se mostram também comuns na medicina das comunidades tradicionais da Caatinga, a citar, as famílias Apocynaceae e Anacardiaceae (ALBUQUERQUE et al., 2020). Dentre a utilização de espécies dessas famílias, observa-se a relação do potencial quanto bioinseticida sobre o *Ae. aegypti* (BARBOSA et al., 2014; SILVA et al., 2019; CRUZ et al., 2020; SILVA et al., 2020; SÁ et al., 2009).

#### Família Fabaceae

A espécie *Anadenanthera colubrina* (Vell Brenan) pertencente a família Fabaceae, vulgarmente conhecida como “angico” é comum em diferentes tipos de biomas, com predominância em florestas sazonais e zonas ripárias (MONTEIRO et al. 2006). *A. colubrina* é importante na medicina popular para as comunidades locais da Caatinga (MONTEIRO et al. 2006), sendo utilizada para tratamento de doenças infecciosas do sistema respiratório e pulmonar, como tosse, tosse convulsiva (AGRA et al., 2007) influenza, pneumonia (DE ALMEIDA et al., 2005) bronquite, (AGRA et al., 2007; DE ALMEIDA et al., 2005) e também apresenta efeito anti-tumoral contra sarcoma em animais, como ratos (DE SOUSA ARAÚJO et al., 2008).

*A. colubrina* também é citada por apresentar atividade antifúngica contra *Alternaria alternata* (CAMPOS et al., 2014) e também efeitos antifúngicos sobre *Candida albicans* (LIMA et al., 2014). Além disso, a planta também demonstrou

atividades inseticidas contra adultos de *Ae. aegypti*, onde o seu extrato metanólico obtido de sementes de diferentes exemplares da Caatinga, ocasionou mais de 96% de mortalidade sobre o mosquito, no mais, o extrato não demonstrou toxicidade sobre células de mamíferos (BARBOSA et al., 2014).

### Família Apocynaceae

Dentre as espécies da família Apocynaceae, uma das dez maiores do grupo das angiospermas do mundo (RAPINI 2012, MOROKAWA, 2013), *Aspidosperma pyrifolium* (Martius), chamada popularmente como “pereiro”, “pereiro preto” ou “pereiro do sertão” (DE ARAÚJO et al., 2007) tem sido alvo de estudos quanto a citotoxicidade dos metabólitos secundários, cujas propriedades farmacológicas e inseticidas são conhecidas, principalmente de produtos isolados das sementes, folhas e caules (RODRÍGUEZ et al., 2008). Espécies do gênero *Aspidosperma* são usadas comumente para finalidade antimalárica (DE PAULA, 2014), antiinflamatória, antiasmática, antifúngica, antisséptica, antimicrobiana, cicatrizante, bactericida, problemas ligadas ao fígado, (OLIVEIRA et al., 2009) respiratórios (OLIVEIRA et al., 2009; SANTOS, 2010) a pele, sistema urinário, (RODRIGUES 2015) estomacal, febre e na medicina veterinária também é utilizada no tratamento de ectoparasitoses de animais domésticos, como sarnas, piolhos e carrapatos (SANTOS, 2010) e tratamento de doenças estomacais em bovinos, caprinos e ovinos (RODRIGUES 2015).

O extrato hidrometanólico da casca do caule de *A. pyrifolium* demonstrou alta atividade antimalárica, mas com baixa toxicidade em vitro (CERAVOLO et al. 2018), tais resultados benéficos foram relacionados a presença de alcaloides monoterpênóides, a exemplo da aspidofractinina e a 15-demetoxipirifolina (DE ARAÚJO et al. 2007). O extrato etanólico das folhas de *A. pyrifolium* também foi mencionado como letal sobre larvas de *Artemia salina* (DE SOUZA LIMA e SOTOBLANCO 2010). Outros estudos ainda relatam morte embrionária, aborto e nascimento prematuro de bovinos, caprinos e ovinos como sendo induzidos pela espécie botânica (DE SOUZA LIMA e SOTOBLANCO 2010; RIET-CORREA et al. 2012), colocando-a como uma das espécies mais tóxicas da Caatinga (AGRA et al., 2007; DE SOUZA LIMA e SOTOBLANCO, 2010; DE ALMEIDA NETO, 2015). A toxicidade do pereiro também foi observada em um estudo sobre o *Ae. aegypti*, mostrando que o extrato etanólico obtido

da raiz ocasionou mais de 94% de mortalidade larval, apresentando, portanto, um indicativo no uso potencial como inseticida natural (SILVA et al., 2020).

#### Família Anacardiaceae

Representante da família Anacardiaceae, a espécie *Myracrodruon urundeuva* (Allemão), conhecida por “aroreira” ou “aroeira do sertão” é encontrada na região da Caatinga, mas, atualmente, está sob ameaça de extinção, devido à extensa exploração como recurso para fins na indústria madeireira e de combustível (SOARES et al., 2018), o que pode implicar diretamente na perda do potencial farmacológico. Pois a espécie é utilizada comumente para tratamentos anti-inflamatórios, cicatrizantes e infecções ginecológicas (OLIVEIRA et al. 2017; VIANA et al. 2003., SOUZA et al., 2007). Além disso, *M. urundeuva* é citada por alguns estudos ocasionando efeitos em diferentes organismos, a exemplo de roedores (SOUZA et al., 2007), nematóides (DE OLIVEIRA et al. 2011) e insetos (SÁ et al., 2009).

Frações de taninos derivadas da casca do caule apresentou ação antiinflamatória e antiulcerígena gástrica em ratos, devido, possivelmente a propriedades antioxidantes e presença de polifenóis da espécie (SOUZA et al., 2007). Os exsudados de sementes obtidos de *M. urundeuva* também comprovaram ação anti-helmíntica sobre *Haemonchus contortus* Rudolphi, 1803 (SOARES et al., 2018) e o extrato da folha e do caule de *M. urundeuva* demonstrou eficácia na inibição da eclosão de ovos de *H. contortus*, podendo estar relacionada à presença dos taninos (DE OLIVEIRA et al. 2011). Além de taninos, as lectinas isoladas da “aroeira” foram associadas ao potencial larvicida sobre o *Ae. aegypti*. O estudo comprovou que extratos oriundos de cascas e do cerne da planta foram os responsáveis pela mortalidade larval do vetor (SÁ et al., 2009).

#### Família Lamiaceae

Outro destaque na Caatinga é a família Lamiaceae (Labiatae Juss), representada por 7.200 espécies, de distribuição cosmopolita (HARLEY, 1996), tendo o gênero *Vitex* como o mais abundante desse grupo, com aproximadamente 250 espécies distribuídas no mundo, também presentes no bioma Caatinga (COSTA et al., 2004; RANI; SHARMA, 2013). Espécies dessa família são utilizadas para tratamentos de doenças, como malária, herpes, coceiras e dermatite. Além disso, as folhas de alguns exemplares

do gênero, a exemplo de *Vitex gardneriana* (Schauer) – arbusto conhecido tradicionalmente como “jaramataia” - são frequentemente usados na medicina popular, como analgésicos e anti-inflamatórios (COSTA et al., 2004; RANI; SHARMA, 2013). O óleo essencial dessa espécie apresenta atividade antimicrobiana, potencial inibidor de biofilme de bactérias, leveduras com atividade antioxidante (DO VALE et al., 2019).

Adicionalmente, essa espécie vem sendo investigada quanto o potencial inseticida para o uso em programas de controle de pragas. Como mostra um trabalho recente, em que o OE das folhas de *V. gardneriana* demonstrou atividade larvicida significativa sobre o *Ae. aegypti*. Leva-se em consideração que a ação larvicida desse óleo seja resultado da presença dos monoterpenos e sesquiterpenos encontrados na análise química do estudo, e tais moléculas podem ser associadas como mecanismo para aumentar a absorção transmembrana de drogas lipofílicas, podendo ser deletéria às larvas do *Ae. aegypti* (SILVA et al., 2019). Resultados similares a esses também foram encontrados, em um estudo de caracterização química, relacionando a atividade larvicida sobre o *Ae. aegypti* aos mesmos componentes encontrados pelo estudo anterior, monoterpenos e sesquiterpenos, demonstrando que o OE das folhas de espécie *V. gardneriana* tem potencial inseticida para combate ao *Ae. aegypti* (PEREIRA et al., 2018).

#### Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae (Jussieu) também se destaca no bioma exclusivamente brasileiro, representando cerca de 300 gêneros, e destes o *Croton* se sobressai pela produção de OEs, devido, sobretudo, a sua diversidade de metabólitos secundários marjoritários, tais como xxx (SALATINO et al., 2007) encontrados em ambientes semiáridos do país. Com cerca de 400 espécies registradas no Brasil, o que coloca possivelmente, o país como uma das regiões da América do Sul com maior número de espécies desse gênero, que são encontrados além da Caatinga, no Cerrado e Campo Rupestre (BERRY et al. 2005). *Croton tetradenius* (Baillon), cujos nomes populares se estendem a “velame falso”, “marmeleiro” (ALBUQUERQUE 2007, SILVA et al. 2010), “caatinga-de-bode”, “zabelê”, “velandinho” e “barba-de-bode” (LUCENA, 2009) também é mencionada na literatura por apresentar componentes bioativos, como XXXX os marjoritários, que geralmente, estão relacionadas aos

tratamentos de cura animal e humano (DO NASCIMENTO MAGALHÃES et al., 2019; CRUZ et al., 2020; DE CARVALHO et al., 2016).

Estudos recentes com o “velame falso”, são bastante diversos no que se refere à utilização medicinal na Caatinga (MORO et al., 2014), particularmente por apresentar propriedades farmacológicas (FONTENELLE et al., 2008). Onde suas espécies são usadas desde o tratamento inflamatório, cancerígeno, diabético (PALMEIRA et al. 2005), infecções fúngicas na pele, problemas nos rins, constipação, doenças infecciosas (DO NASCIMENTO MAGALHÃES et al., 2019), calmantes, tratamentos de gripe a dores de cabeça (ALBUQUERQUE 2007, SILVA et al. 2010). Espécies do gênero *Croton* também vêm sendo utilizadas para comprovar a eficácia dos componentes farmacológicos presentes nos derivados da planta (CRUZ et al., 2020). Ensaio biológicos utilizando uma mistura (*blend*) de OEs das folhas de *Croton tetradenius* Baill e *Croton argyrophyllus* Kunth sobre o *Ae. Aegypti* exemplificaram esse intuito (CRUZ et al., 2020). Os autores constataram ação inseticida das espécies botânicas e também concluíram que o *blend* dos OEs não agride biologicamente os mamíferos, fator primordial para formulação/uso de produtos químicos naturais (CRUZ et al., 2020). Outro trabalho com OE obtido das folhas de *C. argyrophyllus* também demonstrou toxicidade sobre larvas e adultos do vetor *Ae. aegypti* (DE SOUZA et al., 2019).

Além do mais, o OE testado não se limitou apenas como potencial inseticida, também contribui para diminuição dos danos negativos sobre o meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2014), haja vista que as concentrações do óleo analisadas foram menores do que a quantidade necessária para agredir os mamíferos (CRUZ et al., 2017). Sinalizando, portanto, a segurança na utilização desses óleos como promissores agentes inseticidas naturais. Essa eficácia sobre insetos, também foi comprovada a partir dos componentes do OE de espécies aromáticas, (incluindo as do gênero *Croton*), pois ocasionaram repelência e ação tóxica sobre adultos do vetor *Ae. aegypti* (DE SOUZA et al., 2019).

Além desses, outro trabalho comprovou que *C. tetradenius* possui efeito tóxico sobre larvas e adultos de *Ae. aegypti*, em diferentes fases de desenvolvimento (DE CARVALHO et al., 2016). Os autores ainda evidenciaram os principais componentes químicos da espécie, monoterpenos, sesquiterpenos e a cânfora, reforçando trabalhos anteriores (DE CARVALHO et al., 2016). Os OEs oriundos das espécies *C. zenhtneri* (Pax et Hoffm), *C. argyrophyllodes* (Muell Arg), *C. nepetaefolius* (Bail) e *C. sonderianus* (Muell Arg) também apresentaram potencial tóxico sobre o *Ae. Aegypti*, o

que indica mais uma vez, que espécies desse gênero possuem compostos viáveis no controle de vetores (MORAIS et al., 2006).

Portanto, espécies medicinais encontradas na Caatinga oferecem potencial para serem estudadas e utilizadas como produtos naturais com vistas ao controle de pragas de interesse sanitário. O gênero *Croton* se destaca dentro desse contexto, porque além de possuir diferentes compostos bioativos oriundos dos OEs, já comprovados pela literatura supracitada, apresentam-se também vantajosos quanto ao seu uso, eficazes e seguros para o meio ambiente e a saúde do homem.

## **2.7 Caminhos a serem considerados no combate a dengue no Brasil**

No cenário atual, várias questões são desafiadoras no combate a dengue. Devido a ausência de uma vacina eficaz da dengue, a necessidade de políticas públicas mais efetivas voltadas para o controle de doenças epidêmicas (HORTA et al., 2013), as falhas apresentadas pelo planejamento urbano, a falta de mínimas condições de saneamento público para as minorias e a diminuição das visitas realizadas pelos agentes de endemias nas áreas residenciais, principalmente no período onde todo o contingente da saúde se voltou para a assistência a COVID-19 (DOS SANTOS LEANDRO et al 2020), é necessário o investimento na busca por alternativas viáveis e acessíveis para o controle urgente, pois o cenário atual é favorável a uma possível pandemia da dengue. Nesse sentido, os inseticidas naturais oriundos de plantas nativas do bioma Caatinga – a exemplo das várias espécies citadas acima e, principalmente, daquelas advindas do gênero *Croton*, poderiam ser um viés opcional para o controle integrado do *A. aegypti*, principal transmissor dos vírus da dengue na área urbana. Primeiro, como supracitado, porque já tem se estudos que comprovam a eficácia dessas plantas sobre o vetor, assim como mostram que os produtos derivados dessas não agredem organismos não alvos, se mostrando dessa forma eficazes e seguros para utilização. E, segundo, porque além de utilizar espécies endêmicas, cujo acesso é mais facilitado, ainda contribui para a conservação dos recursos naturais dos biomas brasileiros, a exemplo, da Caatinga. No entanto, para a pesquisa sobre os OEs obtidos nessas áreas avançar é essencial o investimento contínuo de programas financiadores do governo. Assim, os OEs de espécies como *C. tetradenius* poderão ser um caminho mediador no controle integrado sobre o *Ae. aegypti* e, conseqüentemente, no combate a dengue.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M. D. F., BARACHO, G. S., NURIT, K., BASÍLIO, I. J. L. D., COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano.” **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 111:383–395, 2007.

AKHTAR, Y. PAGES., STEVENS, A., BRADBURY, ROD DA CAMARA, C. A., ISMAN, M. B. Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. **Physiological Entomology**, 37(1), 81-91, 2012.

ALBUQUERQUE, U. P., BRITO, A. L., NASCIMENTO, A. L. B., OLIVEIRA, A. F. M., QUIXABEIRA, C. M. T., DIAS, D. Q., JÚNIOR, W. F. Medicinal plants and animals of an important seasonal dry forest in Brazil. **Ethnobiology and Conservation**, v. 9, p. 1-53, 2020.

ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **J. Ethnopharmacol.** 114: 325–354, 2007.

ANJOS, Q. Q. A., SILVA, S. L. D. C., SILVA, D. C., GUALBERTO, S. A., SANTOS, F. R., CARVALHO, M. G., SOUSA, D. L. Chemical composition of the essential oil of the *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) aerial part and bioactivity on *Aedes Aegypti* (diptera: Culicidae) in relation to different collection periods. **Periodico Tche Quimica**, 15(30), 364-379, 2018.

ARAÚJO, S. S., SANTOS, M. I. S., DIAS, A. S., FERRO, J. N. S., LIMA, R. N., BARRETO, E. O., ... ALVES, P. B. Chemical composition and cytotoxicity analysis of the essential oil from leaves of *Croton argyrophyllus* kunth. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 6, p. 446-451, 2014.

ARIAS-ESTÉVEZ, M., LÓPEZ-PERIAGO., MARTÍNEZ-CARBALLO., SIMAL-GÁNDARA, J., MEJUTO, J. C., GARCÍA-RÍO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agric. Ecosyst. Environ.** 123, 247–260, 2008.

BARBOSA, P. B. B. M., DE OLIVEIRA, J. M., CHAGAS, J. M., RABÊLO, L. M. A., DE MEDEIROS, G. F., GIODANI, R. B., DE FRERE MELO, M. D. E. Evaluation of seed extracts from plants found in the Caatinga biome for the control of *Aedes aegypti*. **Parasitology Research** 113:3565–3580, 2014.

BERRY, P. E., H. I. P. P. A. L., WURDACK, K. J., VAN, E. E. B. W., RIINA, R. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF sequence data. **American Journal of Botany** 92: 1520–1534, 2005.

BHATT, S., GETHING, P. W., BRADY, O. J., MESSINA, J. P., FARLOW, A. W., MOYES, C. L., ... MYERS, M. F. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504, 2013.

BOND, J. G., OSORIO, A. R., AVILA, N., GÓMEZ-SIMUTA, Y., MARINA, C. F., FERNÁNDEZ-SALAS, I., WILLIAMS, T. Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. **PloS one**, 14(2), e0212520, 2019.

BRADY, O. J., GOLDING, N., PIGOTT, D. M., KRAEMER, M. U., MESSINA, J. P., REINER JR, R. C., ... HAY, S. I. Global temperature constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* persistence and competence for dengue virus transmission. **Parasites & vectors**, 7(1), 338, 2014.

BRAGA, I. A., VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde**, 16(2), 113-118, 2007.

BRAGA, I. A., VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência, 2007.

BRASIL. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Parecer Técnico N° 3964/2014. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/19374.html>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica e Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA). Bol. Epidemiol., Rio de Janeiro, v. 50, n. 13, p. 1-18, Abr. 2019. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/abril/30/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-urbanas-transmitidas-pelo-aedespublicacao.pdf> Acesso em: 2 de maio 2021.

BRASIL. PORTAL DA SAÚDE SUS. SVS Dengue. [acessado 2020 Nov 15]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/dengue>

BRITO, A. F., MACHADO, L. C., OIDTMAN, R. J., SICONELLI, M. J. L., TRAN, Q. M., FAUVER, J. R., ... GRUBAUGH, N. D. Lying in wait: the resurgence of dengue virus after the Zika epidemic in Brazil. **Nature Communications**, 12(1), 1-13, 2021.

CAMPANHOLA, C., BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle fitossanitário. São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 279p.

CAMPOS, V. A., PERINA, F. J., ALVES, E., SARTORELLI, J., MOURA, A. M., OLIVEIRA, D. F. Anadenanthera Colubrina (Vell.) Brenan produces steroidal substances that are active against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler and that may bind to oxysterolbinding proteins. **Pest Management Science**, 2014.



CAMPOS, E. V., PROENÇA, P. L., OLIVEIRA, J. L., BAKSHI, M., ABHILASH, P. C., FRACETO, L. F. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives. **Ecological Indicators**, 105, 483-495, 2019.

CARVALHO, D. O., COSTA-DA-SILVA, A. L., L. E. E. S. R.S., CAPURRO, M. L. Two step male release strategy using transgenic mosquito lines to control transmission of vector-borne diseases. **Acta tropica**, 132, S170-S177, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (CDC), 2014. International Catalog of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates. Atlanta, Ga, USA: **Centers for Disease Control and Prevention**, 2014.

CERAVOLO, I. P., ZANI, C. L., FIGUEIREDO, F. J., KOHLHOFF, M., SANTANA, A. E., KRETTLI, A. U. *Aspidosperma pyrifolium*, a medicinal plant from the Brazilian Caatinga, displays a high antiplasmodial activity and low cytotoxicity. **Malaria Journal**, 2018.

CHANDLER, D., BAILEY, A. S., TATCHELL, G. M., DAVIDSON, G, GREAVES, J., GRANT., W. P. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1573), 1987-1998, 2011.

CHAPLAIN, V., MAMY, L., VIEUBLÉ-GONOD, L., MOUGIN, C., BENOIT, P., BARRIUSO, E., NÉLIEU, S. Fate of pesticides in soils: toward an integrated approach of influential factors. *Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits. InTech*, 2011.

CHELLAPPANDIAN, M., VASANTHA-SRINIVASAN, P., SENTHIL-NATHAN, S., KARTHI, S., THANIGAIVEL, A., PONSANKAR, A., ... HUNTER, W. B. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. **Environment international**, v. 113, p. 214-230, 2018.

CHEN, B., LIU, Q. Dengue fever in China. **The Lancet**, 385(9978), 1621-1622, 2015.

CLARO, L. B., TOMASSINI, H. C., ROSA, M. L. Prevenção e controle do dengue: uma revisão de estudos sobre conhecimentos, crenças e práticas da população [Dengue prevention and control: a review of studies on knowledge, beliefs, and practices]. **Cadernos de saúde pública**, v. 20, n. 6, p. 1447-57, 2004.

COE, H. H. G., RICARDO, S. F., DE SOUSA, L. D. O. F., DIAS, R. R. Caracterização de fitólitos de plantas e assembleias modernas de solo da caatinga como referência para reconstituições paleoambientais. **Quaternary and Environmental Geosciences**, 8(2), 2017.

COSTA, J. G., PESSOA, O. D., MENEZES, E. A., SANTIAGO, G. M., LEMOS, T. L. Composition and larvicidal activity of essential oils from heartwood of *Auxemma glazioviana* Taub.(Boraginaceae). **Flavour and fragrance journal**, 19(6), 529-531, 2004.

CREÃO-DUARTE, A. J., ANJOS, U. U., SANTOS, W. E. Diversidade de membracídeos (Hemiptera, Membracidae) e sobreposição de recursos tróficos em área do semi-árido. **Iheringia Série Zoologia**, 102(4), 453-458, 2012.

CUNHA, S. L., GUALBERTO, S. A., CARVALHO, K. S., FRIES, D. D. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Biotemas**, v. 27, n. 2, p. 79-85, 2014.

DA CRUZ, R. C. D., DA SILVA CARVALHO, K., COSTA, R. J. O., DA SILVA, P. A., E SILVA, S. L. D. C., GUALBERTO, S. A., ... DE SOUZA, I. A. Phytochemical and toxicological evaluation of a blend of essential oils of *Croton* species on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **South African Journal of Botany**, 132, 188-195, 2020.

DA CRUZ, R. C., SILVA, S. L., SOUZA, I. A., GUALBERTO, S. A., CARVALHO, K. S., SANTOS, F. R., CARVALHO, M. G. Toxicological Evaluation of Essential Oil From the Leaves of *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). **Journal of medical entomology**, 2017.

DE ALBUQUERQUE, U. P., DE OLIVEIRA, R. F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of ethnopharmacology**, v. 113, n. 1, p. 156-170, 2007.

DE ALMEIDA NETO, J. R., DE BARROS, R. F. M., SILVA, P. R. R. Uso de plantas medicinais em comunidades rurais da Serra do Passa-Tempo, estado do Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 3, 2015.

DE ALMEIDA, C. F. C. B. R., SILVA, T. D. L., DE AMORIM, E. L. C., MAIA, M. D. S., DE ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of arid environments**, 62(1), 127-142, 2005.

DE ARAÚJO, J. X., ANTHEAUME, C., TRINDADE, R. C. P., SCHMITT, M., BOURGUIGNON, J. J., SANT'ANA, A. E. G. Isolation and characterisation of the monoterpenoid indole alkaloids of *Aspidosperma pyrifolium*. **Phytochemistry Reviews**, 1(6), 183-188, 2007.

DE CARVALHO, K., E SILVA, S. L. D. C., DE SOUZA, I. A., GUALBERTO, S. A., DA CRUZ, R. C. D., DOS SANTOS, F. R., DE CARVALHO, M. G. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **Parasitology research**, v. 115, n. 9, p. 3441-3448, 2016.

DE LIMA, G. P. G., DE SOUZA, T. M., FREIRE, G. P., FARIAS, D. F., CUNHA, A. P., RICARDO, N. M. P. S., DE MORAIS, S. M., CARVALHO, A. F. U. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitol Res** 112:1953–1958, 2013.

DE PAULA, R. C., DOLABELA, M. F., DE OLIVEIRA, A. B. *Aspidosperma* species as sources of antimalarials. Part III. A review of traditional use and antimalarial activity. **Planta medica**, v. 80, n. 05, p. 378-386, 2014.

DE SOUSA ARAÚJO, T. A., ALENCAR, N. L., DE AMORIM, E. L. C., DE ALBUQUERQUE, U. P. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of ethnopharmacology**, 120(1), 72-80, 2008.

DE SOUZA LIMA, M. C. J., SOTO-BLANCO, B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects. **Toxicon**, v. 55, n. 2-3, p. 320-324, 2010.

DE SOUZA, L. J. **Dengue—diagnóstico, tratamento e prevenção**. Editora Rubio, 2008.

DE SOUZA, M. A., DA SILVA, L., MACÊDO, M. J. F., LACERDA-NETO, L. J., DOS SANTOS, M. A. C., COUTINHO, H. D. M., CUNHA, F. A. B. Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) A review. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 160-165, 2019.

DE OLIVEIRA, L. M. B., BEVILAQUA, C. M. L., MACEDO, I. T. F., MORAIS, S. M., MACHADO, L. K. A., CAMPELLO, C. C., MESQUITA, M. A. Effects of Myracrodruon urundeuva extracts on egg hatching and larval ensheat hment of Haemonchus contortus. **Parasitology Research** 109:893– 898, 2011.

DICK, O. B., SAN MARTÍN, J. L., MONTOYA, R. H., DEL DIEGO, J., ZAMBRANO, B., DAYAN, G. H. The history of dengue outbreaks in the Americas. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 87(4), 584-593, 2012.

DO NASCIMENTO MAGALHÃES, K., GUARNIZ, W. A. S., SÁ, K. M., FREIRE, A. B., MONTEIRO, M. P., NOJOSA, R. T., ... BANDEIRA, M. A. M. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of ethnopharmacology**, 237, 314-353, 2019.

DO VALE, J. P. C., DE FREITAS RIBEIRO, L. H., DE VASCONCELOS, M. A., SAFIRMINO, N. C., PEREIRA, A. L., DO NASCIMENTO, M. F., TEIXEIRA, E. H. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of Vitex gardneriana schauer leaves's essential oil. **Microbial pathogenesis**, v. 135, p. 103608, 2019.

DONALÍSIO, M. R., GLASSER, C. M. Vigilância epidemiológica e controle de vetores do dengue. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 5, n. 3, p. 259-272, 2002.

Donalísio, MR. O dengue no espaço habitado. Editora Humanismo. **Ciência e Tecnologia**, São Paulo, 1999.

DOS SANTOS LEANDRO, C., DE BARROS, F. B., CÂNDIDO, E. L., DE AZEVEDO, F. R. Redução da incidência de dengue no Brasil em 2020: controle ou

subnotificação de casos por COVID-19?. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e76891110442-e76891110442, 2020.

DYCK, V. A., HENDRICHS, J., ROBINSON, A. S. Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer, Dordrecht, **The Netherlands: Springer**; 787 pp, 2005.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - (EPA). Registration and review of pyrethrins and pyrethroids. United States Environmental Protection Agency, 2016. Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids#reg%20review>

FERREIRA, L. M., SILVA-FILHA, M. H. N. L. Bacterial larvicides for vector control: mode of action of toxins and implications for resistance. **Biocontrol Science Technology**, v. 23, n. 10, p. 1137-1168, 2013.

FONTENELLE, R. O. S., MORAIS, S. M., BRITO, E. H. S., BRILHANTE, R. S. N., CORDEIRO, R. A., NASCIMENTO, N. R. F., ROCHA, M. F. G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology** 104: 1383-1390, 2008.

FORATTIN, O. P. Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia: v. 2. In: Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia: v. 2. 2002.

FRANCO, O. Reinfestation of Pará by *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de malariologia e doenças tropicais. Publicacoes avulsas**, 21(4), 729, 1969.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Brasília: Funasa; 2002

GAMBARRA, W. P. T., MARTINS, W. F. S., LUCENA FILHO, M. L. D., ALBUQUERQUE, I. M. C. D., APOLINÁRIO, O. K. D., S BESERRA, E. B. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 178-184, 2013.

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.

GOULSON, D., KLEIJN D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 50: 977–987, 2013.

GUAGLIARDO, S. A., BARBOZA, J. L., MORRISON, A. C., ASTETE, H., VAZQUEZ-PROKOPEC, G., KITRON, U. Patterns of geographic expansion of *Aedes aegypti* in the Peruvian Amazon. **PLoS neglected tropical diseases**, 8(8), e 3033, 2014.

GUBLER, D. J., VASILAKIS, N. The Arboviruses: Quo Vadis. Preparation, 2016.

GUBLER, D. J. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. In Novartis foundation symposium (Vol. 277, p. 3). Chichester; New York; John Wiley; 1999.

GUPTA, S., DIKSHIT, A. K. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. **Journal of Biopesticides**, 3(Special Issue), 186, 2010.

GUZMAN, M. G., HARRIS, E. Dengue. **The Lancet**, v. 385, n. 9966, p. 453-465, 2015.

GUZMAN, M. G., KOURI, G. P., MORIER, L., SOLER, M., FERNÁNDEZ, R. Casos mortales de dengue hemorrágico en Cuba, 1981. 1984.

HAMILTON, R. G, Schmitz, JL & Detrick, B. Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology. **American Society for Microbiology**, 2016.

HARLEY, R. M. The Labiatae of Bahia: a preliminary check-list. *Sitentibus* 15: 11-21, 1996

HEALTH INFORMATION PLATFORM FOR THE AMERICAS (PLISA, PAHO/WHO) Disponível em: <https://www.paho.org/data/index.php/en/> acesso em 15 de junho de 2020.

HORTA, M. A. P., CASTRO, F. I., ROSA, C. S., DANIEL, M. C., MELO, A. L. Resistance of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to temephos in Brazil: a revision and new data for Minas Gerais state. **BioAssay**, v. 6, 2011.

HORTA, M. A. P., FERREIRA, A. P., OLIVEIRA, R. B., WERMELINGER, E. D., KER, F. T. O, FERREIRA, A. C. N., CATITA, C. M. S. Os efeitos do crescimento urbano sobre a dengue. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**. 26(4), 539-547, 2013.

HOTEZ, P. J., ALVARADO, M., BASÁÑEZ, M. G., BOLLIGER, I., BOURNE, R., BOUSSINESQ, M., CARABIN, H. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, 8(7), e2865, 2014.

HUANG, Y. J. S, HIGGS, S., VANLANDINGHAM, D. L. Biological control strategies for mosquito vectors of arboviruses. **Insects**, 8(1), 21, 2017.

KANTOR, I. N. Dengue, zika, chikungunya and the development of vaccines. **Medicina**, 78 (1), 23-28, 2018.

KNIPLING, E. F. The basic principles of insect population suppression and management. Washington, D.C.: U.S. Dept. of Agriculture; 1979.

KOOKANA, R. S., BASKARAN, S., NAIDU, R. Pesticide fate and behaviour in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water: a review. *Aust. J. Soil Research*. 36, 715, 1998.

LEAL, I. R., TABARELLI, M., DA SILVA, J. M. C. *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária UFPE, 2003.

LEISNHAM, P. T., LADEAU, S. L., JULIANO, S. A. Spatial and temporal habitat segregation of mosquitoes in urban Florida. **PLoS One** 9(3): e91655, 2014.

LIMA, R. F., ALVES, E. P., ROSALEN, P. L., RUIZ, A. L. T. G., DUARTE, M. C. T., GÓES, V. F. F., MEDEIROS, A. C. D., PEREIRA, J. V., GODOY, G.P., MELO DE BRITO COSTA, E. M. Antimicrobial and Antiproliferative Potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Evidence Based Complementary **Alternative Medicine**, 2014.

LUCENA, M. F. A. Diversidade de Euphorbiaceae (s.l.) no Nordeste do Brasil. Doctoral dissertations. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

LUZ, T. R. S. A., DE MESQUITA, L. S. S., DO AMARAL, F. M. M., COUTINHO, D. F. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. **Acta Tropica**, 105705, 2020.

MALIK, Z., AHMAD, M., ABASSI, G. H., DAWOOD, M., HUSSAIN, A., JAMIL, M. Agrochemicals and soil microbes: interaction for soil health. In *Xenobiotics in the Soil Environment* (pp. 139-152). **Springer, Cham**, 2017.

MARIANO, F. A dengue. Considerações a respeito de sua incursão no Rio Grande do Sul, em 1916. **Arch Bras Med**, v. 7, p. 272-7, 1917.

MARRONE, P. G. Barriers to adoption of biological control agents and biological pesticides. *Integrated Pest Management*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 163-178, 2009.

MARTINS, L. M. A. Alternativas para o controle biológico do agente transmissor da dengue - *Aedes aegypti* L. *Acervo da Iniciação Científica*, v. 12, n. 1, 2013.

MASCARENHAS, M. D. M., BATISTA, F. M. A., RODRIGUES, M. T. P., BARBOSA, O. A. A., BARROS, V. C. Ocorrência simultânea de COVID-19 e dengue: o que os dados revelam? **Caderno de Saúde Pública**, 36(6), e00126520, 2020.

MAYER, S. V., TESH, R. B., VASILAKIS, N. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. **Acta tropica**, v. 166, p. 155-163, 2017.

MENDONÇA, F. D. A., SOUZA, A. V., DUTRA, D. D. A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. **Sociedade & natureza**, 21(3), 257-269, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, (BR). Secretaria De Vigilância Em Saúde, 2019. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45314-cresce-em-264-o-numero-de-casos-de-dengue-no-pais>. Acesso em: 22 de maio de 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE , (BR).. Resumo Executivo de Saúde no Brasil 2015/2016.Uma análise da situação de saúde e da epidemia pelo vírus Zika e por outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*, 2017.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P., LINSNETO, E. M. F., ARAÚJO, E. L., AMORIM, E. L. C. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semiarid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology** 105:173–186, 2006.

MORAIS, S. M., CAVALCANTI, E. S., BERTINI, L. M., OLIVEIRA, C. L. L., RODRIGUES, J. R. B., CARDOSO, J. H. L. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 1, p. 161-164, 2006.

MORO, M., LUGHADHA, E., FILER, D., ARAÚJO, F., MARTINS, F. R. A catalogue of the 29 vascular plants of the Caatinga Phytogeographical Domain: a synthesis of floristic 30 and phytosociological surveys. **Phytotaxa** 160, 1–118, 2014.

MOROKAWA, R., SIMOES, A. O., KINOSHITA, L. S. Apocynaceae s. str. do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, 2013

MOSSA, A. T. H., MOHAFRASH, S. M., CHANDRASEKARAN, N. Safety of natural insecticides: toxic effects on experimental animals. **BioMed research international**, 2018.

MURRAY, N. E. A., QUAM, M. B., WILDER-SMITH, A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. **Clinical epidemiology**, 5, 299, 2013.

MUSTAFA, M. S., RASOTGI, V., JAIN, S., GUPTA, V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, 71(1), 67-70, 2015.

NASCIMENTO, L. B., OLIVEIRA, P. S., MAGALHÃES, D. P., FRANÇA, D. D. S., MAGALHÃES, A. L. A., SILVA, J. B., LIMA, D. M. Caracterização dos casos suspeitos de dengue internados na capital do estado de Goiás em 2013: período de grande epidemia. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 24(3), 475-484, 2015.

NOBRE, A., ANTEZANA, D., TAUILL, P. L. febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Rev Soc Bras Med Trop**. 27 Supl 3:59-66, 1994.

NUNES, J. D. S. Dengue: Etiologia, patogênese e suas implicações a nível global. 2011. Tese de Doutorado. Universidade da Beira Interior.

OLIVEIRA, F. A., RORATO, V. C., ALMEIDA-APOLONIO, A. A., RODRIGUES, A. B., BARROS, A. L., SANGALLI, A., OLIVEIRA, K. M. D. In vitro antifungal activity of *Myracrodruon urundeuva* Allemão against human vaginal *Candida* species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(3), 2423-2432, 2017.

OLIVEIRA, G. P.; SILVA, S. L. C. E.; GUALBERTO, S. A.; CRUZ, R. C. D.; CARVALHO, K. S. Atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius* sobre *Aedes aegypti*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 442448, 2014.

OLIVEIRA, S. B. Construção e avaliação do potencial protetor, em modelo murino, de diferentes construções do Vaccinia Virus Ankara Modificado (MVA) expressando a proteína E de Dengue Virus sorotipos 1, 2 e 4. 2019.

OLIVEIRA, V. B., FREITAS, M. S. M., MATHIAS, L., BRAZ-FILHO, R., VIEIRA, I. J. C. Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 92-99, 2009.

OLLIARO, P, FOUQUE, F, KROEGER, A, BOWMAN, L, VELAYUDHAN, R, SANTELLI, AC & MORALES, FC. Improved tools and strategies for the prevention and control of arboviral diseases: A research-to-policy forum. **PLoS neglected tropical diseases**, 12(2), e0005967, 2018.

OOTANI, M. A., RAMOS, A. C. C., DE AZEVEDO, E. B., DE OLIVEIRA GARCIA, B., DOS SANTOS, S. F., DE SOUZA AGUIAR, R. W. Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus, (Díptera: Culicidae). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, 2011.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Dengue: guías para el diagnóstico, tratamento, prevención y control. La Paz: OPS/OMS, 152 p, 2010.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). 2019. Folha informativa Dengue e dengue grave Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812) Acesso em 7 de abril de 2020.

OSTERA, G. R., GOSTIN, L. O. Biosafety concerns involving genetically modified mosquitoes to combat malaria and dengue in developing countries. **JAMA**, 305(9), 930-931, 2011.

PAIXÃO, E. S., COSTA, M. D. C. N., RODRIGUES, L. C., RASELLA, D., CARDIM, L. L., BRASILEIRO, A. C., TEIXEIRA, M. G. L. C. Trends and factors associated with dengue mortality and fatality in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 48(4), 399-405, 2015.

PALMEIRA, J. S. F., CONSERVA, L. M., SILVEIRA, E. R. Two clerodanedieterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, 1420-1424, 2005.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). 2018. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/24-october-2018-measles-epidemiological-update> Acesso em 16 de maio de 2020.



PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). 2020 <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-dengue-7-february-20207> Acesso em 15 de junho de 2020. 2020a

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). 2020. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/dengue-and-severe-dengue#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/dengue-and-severe-dengue#tab=tab_1) Acesso em 17 de maio de 2020b

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-dengue-7-february-20207> Acesso em 15 de junho de 2020.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Casos reportados de dengue nas Américas. Disponível em: <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue/dengue-nacional/9-dengue-pais-ano.html> Acesso em 29 de agosto de 2021.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Reported cases of dengue fever in th Americas, by country or territory 1995–2017, 2017.

PANG, T., MAK, T. K., GUBLER, D. J. Prevention and control of dengue—the light at the end of the tunnel. **The Lancet Infectious Diseases**, 17(3), e79-e87, 2017.

PEREIRA, A. I. S., A. D. G. S., PEREIRA, L., SOBRINHO, O., PALMA, E. D. K. P., CANTANHEDE, L. F. S., SIQUEIRA. Antimicrobial activity in fighting mosquito larvae *Aedes aegypti*: Homogenization of essential oils of linalool and eugenol. **Educ. Quim.** 25: 446–449,2014.

PEREIRA, E. J. P., SILVA, H. C., HOLANDA, C. L., DE MENEZES, J. E. S. A., SIQUEIRA, S. M. C., RODRIGUES, T. H. S., SANTOS, H. S. Chemical composition, cytotoxicity and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardineriana* Schauer. **Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**, v. 17, n. 3, 2018.

PINHEIRO, F. P., CHUIT, R. Emergence of dengue hemorrhagic fever in the Americas. **Infect Med** 15, 244-251, 1998.

PROPHIRO, J. S, SILVA., O. S., LUNA, J. E. D., PICCOLI, C. F., KANIS, L. A., SILVA, M. A. N. D. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 300-305, 2011.

RAMOS, J. M. D. O. Identificação dos constituintes químicos e estudo farmacológico do óleo essencial das folhas da *Croton argyrophyllus* kunth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 23, n.4, p. 644-650, 2013.

RANI, A., SHARMA, A. The genus *Vitex*: A review. **Pharmacognosy reviews**, v. 7, n. 14, p. 188-198, 2013.

RAO, P. S. C., MANSELL, R. S., BALDWIN, L. B., LAURENT, M. F. Pesticides and their behavior in soil and water. **Long Island horticulture news** (USA), 1999.

RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R.M.T., SCHILD, A.L. A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. **Journal of Applied Toxicology**, 2012.

RODRIGUES, J. V. M. Desenvolvimento de uma solução oral com atividade farmacológica a partir de extrato de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. 2015.

RODRÍGUEZ, A. M., CAMARGO, J. R., GARCÍA, F. J. B. Actividad in vitro de lamezcla de alcaloides de *Ervatamia coronaria* (Jacq) Staff. Apocynaceae sobre amastigotes de *Leishmania braziliensis*. **Revista Brasileira Farmacognologia**, v. 18, p. 350-355, 2008.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J., GALLEGO, V., ESCALERA-ANTEZANA, J. P., MÉNDEZ, C. A., ZAMBRANO, L. I., FRANCO-PAREDES, C., ... CIMERMAN, S. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. **Travel medicine and infectious disease**, 2020.

ROIZ, D., WILSON, A. L., SCOTT, T. W., FONSECA, D. M., JOURDAIN, F., MÜLLER, P., ... CORBEL, V. Integrated *Aedes* management for the control of Aedes-borne diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, 12(12), 2018.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

SÁ, RA, DE LIMA SANTOS, N. D., DA SILVA, C. S. B. NAPOLEÃO, TH, GOMES, FS, CAVADA, BS & PAIVA, PMG. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149(3), 300-306, 2009.

SALATINO, A., SALATINO, M. L. F., NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 18(1), 11-33, 2007.

SALAZAR-LEDESMA, M., PRADO, B., ZAMORA, O., SIEBE, C. Mobility of atrazine in soils of a wastewater irrigated maize field. **Agriculture, ecosystems & environment**. 255, 73–83, 2018.

SALES, JOSENALVA PEREIRA DA SILVA. Análise da relação dos casos de dengue no Brasil e os gastos com vigilância epidemiológica. 2020.

SANTOS, P. B. Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de angico *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Var. cebil (Gris.) Alts e pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Patos–PB. Programa de Pósgraduação em Zootecnia. Patos: Universidade Federal de Campina Grande, 2010.

SCHATZMAYR, H. G., NOGUEIRA, R. M. R., ROSA, A. P. D. A. T. D. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro-1986. 1986.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. Dengue. Ministério da Saúde. Disponível em: [http://dtr2001.saude.gov.br/svs/epi/dengue/dengue\\_cartaz.htm](http://dtr2001.saude.gov.br/svs/epi/dengue/dengue_cartaz.htm). 2006

SHEPARD, D. S., UNDURRAGA, E. A., HALASA, Y. A., STANAWAY, J. D. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 8, p. 935-941, 2016.

SILVA, J. S., SALES, M. F. D., GOMES, A. P. D. S., CARNEIRO-TORRES, D. S. Sinopse das espécies de Croton L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 441-453, 2010.

SILVA, P. B., SOUSA, D. L., DA ROCHA, A. S. M., GUALBERTO, S. A., DA SILVA, D. C. Avaliação do efeito do extrato etanólico da raiz de *Aspidosperma pyrifolium* sobre o desenvolvimento do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, 3(2), 556-561, 2020.

SILVA, P. T., SANTOS, H. S., TEIXEIRA, A. M. R., BANDEIRA, P. N., HOLANDA, C. L., VALE, J. P. C., SANTIAGO, G. M. P. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 329-332, 2019.

SINGH, V., MISHRA, S. C., AGARWAL, N. A., MALLIKARJUNA, P. A., RAUT, B. B. Dengue infection with warning signs: The 2019 epidemic. **Medical Journal Armed Forces India**, 2020.

SOARES, A. M. S., OLIVEIRA, J. T. A., ROCHA, C. Q., FERREIRA, A. T. S., PERALES, J., ZANATTA, A. C., VILEGAS, W., SILVA, C. R., COSTA-JÚNIOR, L. *M. Myracrodruon urundeuva* seed exudates proteome and anthelmintic activity against *Haemonchus contortus*. **PLoS One** 13:e0200848, 2018.

SOARES, F. S. C., SOARES, M. S., FERNANDES, F. L., VISÔTTO, L. E., PIRES, E. M. Inseticidas botânicos: extração, identificação de metabólitos secundários e aplicação no controle de pragas. **Avanços Tecnológicos Aplicados à Pesquisa na Produção Vegetal**, p. 219, 2015.

SOPER, F. L. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 14(6), 887-891, 1965.

SOUZA, S. M. C., AQUINO, L. C. M., J. R., A. M., BANDEIRA, M. A. M., NOBRE, M. E. P., VIANA, G. S. B. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. **Phytotherapy Research**, 21(3), 220-225, 2007.

SRIJITA, D. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)**, v. 4, n. 6, p. 250-265, 2015.

STRODE, C., DE MELO-SANTOS, M., MAGALHÃES, T., ARAÚJO, A., AYRES, C. Expression profile of genes during resistance reversal in a temephos selected strain of the dengue vector, *Aedes aegypti*. **PLoSOne**, v. 7, n. 8, p. e 39439, 2012.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, 18(3), 867-871, 2002.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, 17, S99-S102, 2001.

TEIXEIRA, M. D. G. L. C., COSTA, M. D. C. N., BARRETO, M. L. E. O dengue continua desafiando e causando perplexidade. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 5, p. 828-829, 2011.

TROCZKA, B. J. Ryanodine receptors: next generation of insecticide targets. 2013. Tese de Doutorado. Cardiff University.

USEPA. ENVIRONMENTAL, U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 40 CFR PART 63. (2015).

USEPA. ENVIRONMENTAL, US. Environmental Protection Agency 40 CFR PART 63. (2010).

VALLE, D, PIMENTA, D. N., AGUIAR, R. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 25(2),419-422, 2016.

VEGA-RÚA, A., ZOUACHE, K., GIROD, R., FAILLOUX, A. B., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. **Journal of virology**, 88(11), 6294-6306, 2014.

VIANA, G. S. B., BANDEIRA, M. A. M., MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. **Phytomedicine**, 10(2-3), 189-195, 2003.

WEAVER, S. C., CHARLIER, C., VASILAKIS, N., LECUIT, M. Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. **Annual review of medicine**, 69, 395-408, 2018.

WERMELINGER, E. D., FERREIRA, A. P. Métodos de controle de insetos vetores: um estudo das classificações. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 3, p. 49-54, 2013.

WILDER-SMITH, A., GUBLER, D. J. Dengue vaccines at a crossroad. **Science**, v. 350, n. 6261, p. 626-627, 2015.

WORKMAN, M. J., GOMES, B., WENG, J. L., ISTA, L. K., JESUS, C. P., DAVID, M. R., ... HURWITZ, I. Yeast-encapsulated essential oils: a new perspective as an environmentally friendly larvicide. **Parasites and Vectors**, 13(1), 1-9, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. Geneva: WHO; 2012

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2012). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2017). Number of reported cases of dengue and severe dengue (SD) in the Americas, by Country. Epidemiological Week, v. 52.

XI, X., YAN, J., QUAN, G., CUI, L. Removal of the pesticide pymetrozine from aqueous solution by biochar produced from brewer's spent grain at different pyrolytic temperatures, **BioResources** 9, 7696-7709, 2014.

ZARA, A. L. D. S. A.; SANTOS, S. M. D.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

**O trabalho a seguir foi elaborado segundo as normas da revista South African Journal of Botany (Capítulo I).**

## ANEXO I



**Figura 1.** Fluxograma apontando os principais pontos do avanço da dengue no país. Criado pelo aplicativo CANVA.

## CAPÍTULO I

### **Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) no desenvolvimento de larvas, pupas e análise da morfometria geométrica alar do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).**

Penélop Barros Silva<sup>a\*</sup>; Rômulo Carlos Dantas da Cruz<sup>b\*</sup>; Débora Cardoso da Silva<sup>3</sup>;  
Paulo Sávio Damásio da Silva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Natural Sciences. Southwest Bahia State University, BR 415, km 04 45.700-000, Itapetinga, Bahia, Brasil.

<sup>b</sup>Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, 50740-521 Recife, PE, Brazil

---

#### A B S T R A C T

Os inseticidas botânicos, a exemplo dos óleos essenciais (OEs) presentes em espécies do gênero *Croton*, podem ser um método alternativo ao uso dos inseticidas químicos sintéticos, utilizados sobre o *Aedes aegypti*. O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade larvicida, a viabilidade larval e pupal e analisar a morfometria geométrica alar de *Ae. aegypti*. O OE de *C. tetradenius* foi extraído através do destilador do tipo Clevenger industrial. Para avaliação larvicida, utilizou-se larvas do terceiro e quarto instar de *Ae. aegypti*, com seis concentrações e cinco repetições. Para a viabilidade larval e pupal, utilizou-se larvas sobreviventes à exposição do OE. Para a morfométrica foram fotografadas e digitalizadas 417 asas esquerdas de fêmeas e machos do vetor. Foi comprovada a toxicidade do OE de *C. tetradenius* obre as larvas nas concentrações de 1,0 (100% nas 2 primeiras horas) e 0,5 mg mL<sup>-1</sup> (80% de mortalidade larval a partir das 2h). As soluções de 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup> causaram 29,33% e 37,33% de mortalidade em 24 horas, respectivamente, no entanto não diferiram entre si e entre as menores concentrações (0,062 e 0,031mg mL<sup>-1</sup>). Os tratamentos de 0,062 e 0,031mg mL<sup>-1</sup> não foram letais as larvas, assim como no grupo controle. A viabilidade larval e pupal mostrou que somente o tratamento de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> diferiu do grupo controle em ambas as categorias, apresentando mais de 80% de larvas que atingiram o estágio pupal e de pupas que alcançaram a fase adulta. A morfometria geométrica revelou que há diferença entre as formas alar dos indivíduos. O OE de *C. tetradenius* é tóxico as larvas de *Ae. aegypti*. Provavelmente afeta a viabilidade larval, pupal e também a razão sexual. Há diferença na forma das asas dos mosquitos dentro dos grupos apresentados.

Palavras-chave: Controle de vetores, Inseticida natural, Parasitologia, Uso sustentável

---

#### 1. Introdução

O *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae), por ser o vetor primário na transmissão de várias arboviroses, como febre amarela, dengue, chikungunya e Zika vírus (Ciota et al., 2017; Lugones

Botell et al., 2016), e por ser associado também aos surtos da síndrome de Guillain-Barré e casos de Síndrome congênita do zika vírus em neonatais (Oliveira et al., 2018; Santo, 2018), tem promovido um grande caos na saúde pública mundial, fazendo 141

vítimas em 2021 no Brasil, até a semana epidemiológica 24 (PAHO, 2021).

Dentre as infecções virais, a dengue é a principal doença transmitida por artrópodes no mundo, em razão do seu alto crescimento, um salto de 30 vezes nos últimos 50 anos, expansão mundial (Pang et al., 2017) e infecção a cerca de 390 milhões de pessoas anualmente no planeta (Bhatt et al., 2013). Somente no Brasil, em 2020, foram registrados mais de 1 milhão de casos de dengue (PAHO, 2020).

Outras doenças vinculadas ao *Ae. aegypti*, como a zika, registrou seus primeiros casos em 2015 no país, simultaneamente associado à síndrome de Guillain-Barré (Oliveira et al., 2018; Santos, 2018). Além desses, notificações de microcefalia em recém-nascidos também se relacionam com esse mosquito (Oliveira et al., 2018; Santos, 2018), registrando até o final de 2015, cerca de 3 mil casos no país (Lugones Botell et al., 2016).

Os arbovírus desafiam a saúde pública, especialmente se tratando do território brasileiro, onde a prevenção e o controle são medidas difíceis de serem alcançadas, como foi visto nas recentes epidemias espalhadas pelas cidades brasileiras (Kantor, 2018).

Para solucionar esse problema, o controle populacional do vetor é o mais indicado, que pode ser realizado por medidas integradas, dentre estas, a utilização de inseticidas sintéticos (Roiz et al., 2018). Atualmente, os inseticidas sintéticos, como os organofosforados e piretroides são as metodologias mais empregadas (OPS, 2010). No entanto, os inseticidas sintéticos oferecem inúmeras desvantagens, tais como: conferem baixa seletividade e aceleram o aparecimento de populações de mosquitos resistentes (Campos et al., 2019; De Souza et al., 2019), também ocasionam danos aos ecossistemas, atingindo

organismos não-alvos, como aves e peixes, o que conseqüentemente, afeta a saúde do ser humano (Rao et al., 1999; Xi et al., 2014).

Assim, é imperativa a busca por alternativas de controle de menor impacto ambiental e não prejudicial ao homem. Nesse sentido, diversos estudos estão pautados na análise de óleos essenciais (OEs), que são sintetizados a partir de vias metabólicas secundárias de espécies vegetais, produzidas naturalmente como moléculas de comunicação, e que resultam, na atração de polinizadores, termodinâmica da planta e defesa contra insetos herbívoros (De Souza et al., 2019; Regnault-Roger et al., 2012; Vasconcelos et al., 2013).

Os OEs de *Croton tetradenius* Baill, demonstram ser bons aliados para o programa integrado de controle de *Ae. aegypti* pois, apresentam propriedades fitoterápicas e, também, atividades inseticidas comprovadas (Anjos et al., 2018; Cunha et al., 2014; Da Cruz et al., 2020; Da Silva Carvalho et al., 2016). Além disso, os trabalhos com espécies de *Croton* tem visado o uso biodegradável, a não toxicidade sobre mamíferos e a viabilidade econômica (Anjos et al., 2018; Cunha et al., 2014; Da Cruz et al., 2020; Da Silva Carvalho et al., 2016).

O OE de *Croton tetradenius* pode indicar a ocorrência de alterações morfológicas nas asas de *Ae. aegypti*. Com o intuito de continuar essa linha de investigação, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade larvicida, a viabilidade larval e pupal e analisar a morfometria geométrica alar de *Aedes aegypti*.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Material botânico



Exemplares da planta *Croton tetradenius* foram coletadas no período da manhã em abril de 2019, na Unidade de Conservação da Floresta Nacional Contendas do Sincorá (FLONA) localizada na cidade de Contendas do Sincorá, Bahia, Brasil (coordenadas geográficas S 13° 55' 02.8" W 41° 07' 22.0"). Após a coleta, um exemplar dos ramos da planta foi devidamente herborizado e identificado por uma taxonomista de plantas, Guadalupe Edilma Licon de Macedo. A excisada foi depositada no herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Campus de Jequié, sob a identificação HUESB 3521. O material botânico foi coletado e usado conforme as normas internacionais e nacionais da biodiversidade seguido pela aprovação do Patrimônio Genético Brasileiro (número de protocolo A838270).

## 2.2 Extração do óleo essencial

Para extração, os OEs de *Croton tetradenius*, 7,38 kg da parte aérea da espécie foram lavadas, mais tarde, secas e levadas a estufa de circulação de ar regulada a 40 °C por um período de 12 horas.

Após esse período, a espécie foi macerada manualmente e realizou-se a extração do óleo essencial através do método de hidrodestilação, utilizando um destilador do tipo Clevenger industrial solab SL-76L<sup>®</sup>, a uma temperatura de 100 °C, a partir de 400,0 g da parte aérea e 1,5 L de água deionizada, por de 3 horas. Em seguida, foi adicionado ao óleo obtido, sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para remoção da água residual no óleo. Posteriormente, o óleo foi armazenado em recipiente de âmbar vedado, mantido em freezer a uma temperatura de - 4 °C ± 1 °C.

## 2.3 Avaliação larvicida

As larvas de *Ae. aegypti* utilizadas foram

oriundas de uma colônia estabelecida no Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais (LAPIN), da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), a partir de ovos da linhagem Rockefeller, cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/Rio Janeiro).

Para a realização dos bioensaios, os ovos foram previamente colocados para eclosão em recipientes de polipropileno (26 cm x 33,5 cm) contendo cerca de 1L de água deionizada, as quais foram adicionadas alimentação artificial de ração para peixe (Alcon Basic<sup>®</sup>). Após o surgimento das larvas, o procedimento foi repetido diariamente até a última fase larval.

Para o preparo das concentrações do óleo essencial, utilizou-se uma solução de Tween 80 e água deionizada a 10% e essa mesma proporção foi usada no grupo controle.

Foram avaliadas seis concentrações do OE (1,0; 0,50; 0,25; 0,125; 0,062; 0,031 mg mL<sup>-1</sup>) com cinco repetições por tratamento. Em cada repetição utilizou-se 30 larvas de *Ae. aegypti*, entre o terceiro e quarto instar. As larvas foram imersas em 29 mL de água deionizada, onde foi adicionada 1 mL das diferentes soluções. As observações de mortalidade larval ocorreram nos períodos de 2h, 4h, 8h, 16h e 24 horas, após a montagem experimental.

## 2.4 Viabilidade larval e pupal

As larvas que sobreviveram à exposição dos OEs e seus respectivos grupos controle por um período de 24 horas, foram lavadas três vezes, com 20 mL de água deionizada e filtradas, por meio de um tecido permeável esterilizado (12x12) cm) e em seguida

foram transferidas, com o auxílio de pipetas de Pasteur, individualmente, e colocadas em tubos de ensaio (18 mm de altura x 7 mm de diâmetro) contendo 5 mL de água deionizada, os quais foram vedados com algodão. Como substrato para a alimentação das larvas foi oferecido 2 mg de ração de peixe triturada, por tubo, fornecido a cada dois dias. Esse procedimento foi adotado com o objetivo de avaliar a viabilidade larval e pupal, assim como o período pupal, após as larvas terem sido expostas aos OEs. Posteriormente a emergência dos insetos adultos, foi feita a sexagem dos indivíduos (i.e., identificado os sexos) e sacrificados em temperatura de - 4 °C. Na sequência, os mosquitos foram rotulados e armazenados em álcool 70% para as análises morfométricas subsequentes.

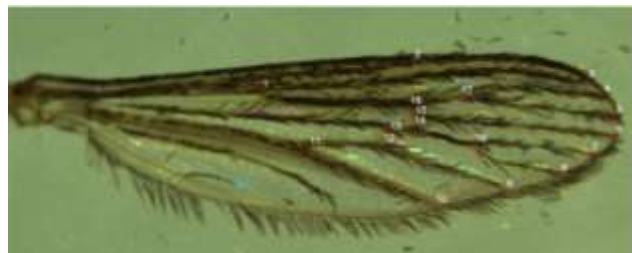
### 2.5 Preparação das asas e aquisição dos dados para morfometria geométrica

No total, foram utilizadas 417 asas esquerdas de mosquitos adultos. Para auxílio da remoção das asas, utilizou-se duas pinças metálicas (7 e 11 cm). Foram consideradas somente as asas livres de danos eventuais.

Após a remoção, todas as asas foram colocadas em lâminas microscópicas para aquisição de fotografias através da câmera do estereoscópio Leica S8AP0<sup>®</sup>, cuja óptica plana do microscópio impede deformações periféricas das imagens. Todas as imagens das asas foram posicionadas ao nível central (horizontal) da moldura da imagem para futura aquisição de informação morfométrica.

Posteriormente, as imagens foram digitalizadas no software *tpsUtil* (v.32) para classificação da estrutura de interesse em um mesmo formato (*tps*) (Rohlf, 2015). E, em seguida, através do software

*tpsDig* (v.32) (Rohlf, 2015). as imagens digitalizadas foram marcadas com 18 pontos de referências (*landmarks*) (Chintapalli et al., 2016; Consoli, Oliveira 1994). (**Figura 1**), admitindo para essa marcação o encontro das nervuras nas asas (Lorenz et al., 2012; Wilk-da-Silva et al., 2018).



Landmarks	Descrição
1	Intersecção da veia rádio 2 + Subcosta
2	Subcosta
3	Rádio 1
4	Rádio 2
5	Rádio 3
6	Rádio 4 + 5
7	Média 1
8	Média 2
9	Média 3 + 4
10	Cúbito anterior
11	Intersecção da média 3 + 4 e Cúbito anterior
12	Média 3 + 4
13	Média 1 + 2
14	Intersecção da Média 2 e Média 4 + 5
15	Radiomedial e 4 + 5
16	Intersecção da veia rádio 2 + 3 e setor radial
17	Intersecção da veia rádio 2 + 3 e rádio 2
18	Média 1 + 2 e Média 1 e 2

Figura 1. A) Interface do software *tpsDig* com os 18 pontos de referências as asas do *Aedes aegypti*. B) Descrição dos pontos de referências.

### 2.6 Análise estatística

O percentual de mortalidade de larvas e adultos derivados da avaliação dos inseticidas foram submetidos ao teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O percentual da viabilidade larval e pupal das diferentes concentrações do OE foram calculados através do Intervalo de Confiança. Enquanto para a razão sexual foi usado o teste do Qui-quadrado. No que se refere à morfometria, foi usado um conjunto de análises multivariadas de morfometria geométrica, a qual definiu a forma e todas as suas configurações,

com exceção de escala, posição e orientação (Klingenberg et al., 2012). Para obtenção da forma foram usados marcos anatômicos através da sobreposição de Procrustes (Dryden et al., 2008).

Aplicou-se uma regressão multivariada das coordenadas de Procrustes – quanto a informação sobre a forma – do centroide (valor ao quadrado da distância entre os *landmarks*) para analisar a variação da forma em função do efeito de alometria (Rohlf et al., 1990). O modelo de regressão foi utilizado para calcular a distância de Procrustes, admite a variação total da percentagem da forma (Goodall, 1991; Klingenberg et al., 1998).

A significância estatística das regressões alométricas foi testada a partir de um teste de permutação em oposição à hipótese nula de independência alométrica (Good, 2000).

A análise dos principais componentes (PCA), variáveis canônicas (CVA) e função discriminante (DFA) foram usadas para avaliar a variação da forma e detectar diferenças quanto as respostas verificadas em relação a entre as concentrações do óleo essencial. A análise generalizada de Procrustes, análise multivariada, PCA, CVA, DFA e os gráficos foram realizados no *software MorphoJ* (v.1.07) (Klingenberg, 2011).

### 3. Resultados

#### 3.1 Avaliação larvicida

A análise de mortalidade larval nas diferentes concentrações do óleo essencial (OE) de *C. tetradenius* revelou, nas primeiras duas horas de exposição, alta toxicidade no tratamento de 1,0 mg mL<sup>-1</sup> o que resultou em 100% de morte das larvas nessa concentração (**Tabela 1**). O que tratamento de 0,5 mg mL<sup>-1</sup> no

mesmo período de duas horas, ocasionou 80% de mortalidade larval, no entanto, não diferiu significativamente do tratamento anterior. Os tratamentos de 0,25 (9,33%); 0,125 (21,99%); 0,062 (0,00%) e 0,031 mg mL<sup>-1</sup> (0,00%) não apresentaram diferenças entre si, assim como quando comparado ao grupo controle nesse período observado.

Tabela 1. Percentual de mortalidade de larvas do *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial de *Croton tetradenius* Baill.

<sup>a b c</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Concentrações (mg mL <sup>-1</sup> )	Mortalidade (%) <sup>abc</sup>				
	2h	4h	8h	16h	24h
1,0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
0,5	80.00 <sup>a</sup>	96.13 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
0,25	9.33 <sup>b</sup>	13.33 <sup>bc</sup>	24.67 <sup>bc</sup>	28.67 <sup>b</sup>	29.33 <sup>b</sup>
0,125	21.99 <sup>b</sup>	28.67 <sup>b</sup>	34.33 <sup>b</sup>	37.33 <sup>b</sup>	37.33 <sup>b</sup>
0,062	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>
0,031	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>
Controle	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>

Com 4 horas de observação, o tratamento de 0,5 mg mL<sup>-1</sup> provocou mais de 96% de mortalidade larval, apresentando diferença entre os tratamento de 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup>, com 13,33 e 28,67% de mortes larval, respectivamente.

As concentrações de 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup> ocasionou mais de 24% de toxicidade letal em 8 horas de exposição ao OE. No entanto, 0,25 mg mL<sup>-1</sup> não diferiu estatisticamente do tratamento de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> nesse mesmo período, embora o último tenha apresentado mortalidade larval superior a 34%. As soluções de 0,062 e 0,031 g mL<sup>-1</sup> não ocasionaram mortalidade larval, assim como observado no grupo controle.

O OE presente na solução de 0,25 mg mL<sup>-1</sup> foi deletério a mais de 28% das larvas, no período de 16 horas de exposição. A concentração inferior a essa, de

0,125 mg mL<sup>-1</sup> provocou mais de 37% de mortalidade larval. Entretanto, essas duas proporções do OE não apresentaram diferença significativa em relação ao percentual de mortalidade larval. Também foi observado nesse período que as concentrações do OE de 0,062 e 0,031 mg mL<sup>-1</sup> não foram tóxicas para as larvas, do mesmo modo no grupo controle. Com 24 horas de exposição ao OE, as concentrações de 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup> apresentaram 29,33 e 37,33% de letalidade entre as larvas, mas essas mesmas soluções não diferiram entre si. Os tratamentos de 0,062 (0,00%); 0,031 mg mL<sup>-1</sup> (0,00%) e o grupo controle não foram tóxicos para as larvas.

Portanto, as soluções de 1 mg mL<sup>-1</sup> e 0,5 mg mL<sup>-1</sup> do OE foram as que provocaram os efeitos tóxicos mais elevados sobre as larvas, inclusive com boa resposta nas 2 primeiras horas de contato. A concentração de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> desde o início apresentou mais de 20% de mortalidade larval, (21,99% em 2 horas), e ao final do experimento apresentou 37,33% de mortalidade larval. No entanto, os valores ao longo de todos os períodos não diferiram entre si no percentual de mortalidade apresentado.

Tabela 2. Percentual de viabilidade larval e pupal de *Aedes aegypti* em relação ao óleo essencial de *Croton tetradenius*.

Concentrações (mg mL <sup>-1</sup> )	Viabilidade larval (%)		Viabilidade pupal (%)	
	X	IC	X	IC
0,25	83,91%	<b>74,63 – 93,18</b>	81,46%	<b>75,32 – 97,60</b>
0,125	89,94%	<b>84,37 – 95,51</b>	84,80%	<b>79,34 – 90,27</b>
0,062	96,67%	<b>95,20 – 98,13</b>	93,10%	<b>90,07 – 96,12</b>
0,031	95,55%	<b>92,75 – 98,35</b>	98,89%	<b>95,80 – 101,97</b>
Controle	97,78%	<b>96,32 – 99,23</b>	98,89%	<b>97,20 – 100,57</b>

X: médias apresentada em percentual. IC: Intervalo de Confiança

### 3.2 Viabilidade larval e pupal

A viabilidade larval, isto é, larvas que atingiram a fase de pupa, nas concentrações 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup> não diferiram entre si e com relação às concentrações de 0,031 mg mL<sup>-1</sup> 95,55%. (**Tabela 2**). No entanto, o tratamento 0,25 mg mL<sup>-1</sup> difere de 0,062 mg mL<sup>-1</sup> (96,67%), 0,25 e 0,0125 mg mL<sup>-1</sup> são diferentes do grupo controle significativamente com 83,91, 89,94 e 97,78% respectivamente.

Em relação a viabilidade pupal, os tratamentos 0,25 e 0,125 mg mL<sup>-1</sup>, não diferiram entre si, assim como com as menores concentrações 0,062 mg mL<sup>-1</sup> e 0,031 mg mL<sup>-1</sup>. Ou seja, não há diferença no percentual de pupas que alcançaram o estágio adulto, mostrando viabilidade superior a 81% para todas as soluções com óleo.

Os tratamentos 0,25 mg mL<sup>-1</sup> e 0,031 mg mL<sup>-1</sup> quando comparadas ao grupo controle não mostram diferença significativa na viabilidade pupal, apresentando 81,46%, 98,89% e 98,89%, nesta ordem. As concentrações de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> e 0,062 mg mL<sup>-1</sup> não diferem entre si, contudo, as soluções de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> e 0,062 mg mL<sup>-1</sup> mostram diferença em relação ao grupo controle, com 84,80%, 84,80% e 98,89% de viabilidade pupal, respectivamente. Portanto, o tratamento de 0,125 mg mL<sup>-1</sup> tanto na viabilidade larval quanto na pupal apresenta diferença significativa com o controle.

No que se refere a razão sexual, os tratamentos de 0,25 e 0,31 mg mL<sup>-1</sup> não seguiram a proporção esperada para culicídeos que é de 1:1 entre fêmeas e machos [34], o valor encontrado foi de 6,4 para ambas as concentrações, superior ao valor tabelado pelo Qui-quadrado que é de 3,84). A razão sexual para esses tratamentos foi de 0,33 e 0,39 respectivamente. O mesmo foi observado no grupo controle.

Quando comparado aos resultados da mortalidade larval dos tratamentos de 0,25; 0,31 mg mL<sup>-1</sup> e controle, os mesmos apresentaram baixo e nenhum efeito deletério sobre nas larvas, nessa ordem. Os resultados podem estar relacionados viabilidade larval, que foi de 83,91%; 95,55% e 97,78% para as concentrações respectivamente, levando a acreditar que houve mais fêmeas que machos que não alcançaram o desenvolvimento até a fase pupal.

Já os tratamentos de 0,125 e 0,062 mg mL<sup>-1</sup> atingiram a proporção esperada de fêmeas emachos, com razão sexual de 0,5 (X<sup>2</sup> 0) e 0,43 (X<sup>2</sup> 0) de modo respectivo. A exposição do OE no tratamento de 0,062 mg mL<sup>-1</sup> não gerou mortalidade larval, possivelmente o OE também não afetou a razão sexual dessa solução.

### 3.3 Análise da morfometria geométrica

Tabela 3. Resultados estatísticos das análises de variáveis canônicas (AVC).

V	Valor	Var %	Cum Var %	Com mg mL <sup>-1</sup>	P-valor/1			
					0,31	0,062	0,125	0,25
1	0,8265671	63,121	63,121	0,062	0,6070	<b>0,0230</b>		
2	0,2518815	19,235	82,356	0,125	0,0150	0,0250		
3	0,1454610	11,108	93,464	0,25	<b>0,0014</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,0600	
4	0,0855888	6,536	100,000	CT	0,0020	0,0070	0,1411	
					<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,1411</b>	0,1670
					<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>

CV: eixos das CVA; Variância; Cum Var: variação cumulativa (%); Per: distância de procrustes; Valor em negrito significa significância estatística (P <0.05).

A morfometria geométrica alar revelou um padrão de segregação em relação aos tratamentos em todas as análises. Em primeiro lugar, ao relacionar as coordenadas de Procrustes e o tamanho do centroide, houve uma correlação significativa entre a variação da forma das asas dos indivíduos de *Ae. aegypti* sobre as diferentes concentrações do OE, assim como no grupo controle (< 0.05) (**Tabela 3**).

As nervuras das asas são pontos que compartilham muitas informações, e, por isso, frequentemente são

estudadas em insetos [35]. Dos 18 pontos de referências, a CVA revelou sobreposição dos tratamentos entre si e com o grupo controle (**Figura 2**), o que é consistente com o fato de pertencerem a mesma espécie. Entretanto, o controle tende a se espalhar mais quando comparado as outras concentrações que estão mais agrupadas. O que significa dizer que a forma das asas do controle apresenta maior distinção quando igualada aos demais tratamentos com OE, ainda que essas indiquem baixo grau de singularidade de forma.

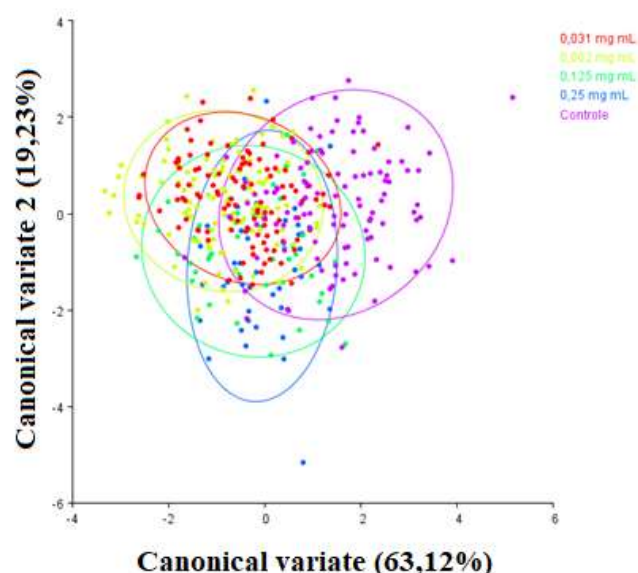


Figura 2. Espaço morfológico produzido pela (CVA) de *Aedes aegypti* baseado na variação da forma de asa em relação as concentrações do óleo essencial.

Foram observadas diferenças estatísticas nos tratamentos do OE e grupo controle. As duas variáveis canônicas juntas representam 82,46% de diferença entre os grupos. A distância de Procrustes também revela diferenças sutis entre todos os grupos.

A análise dos principais componentes (PCA) mostrou variação entre os tratamentos. Conforme os critérios de avaliação da PCA foram avaliados cinco

principais componentes (variação cumulativa: 28,32%; 41,84%; 54,61%; 65,27%; 74,31%).

Embora exista variação dentro das concentrações, também foi observado que alguns pontos anatômicos se sobrepõem entre os tratamentos e grupo controle. Há sobreposição de seis pontos de referências entre a solução de 0,25 mg mL<sup>-1</sup>; onze com 0,125mg mL<sup>-1</sup>; sete com 0,062mg mL<sup>-1</sup> e dez com 0,031 mg mL<sup>-1</sup>, todos com o controle (**Figura 3**).

Desta forma, conclui-se, com base na morfometria geométrica que o OE de *C. tetradenius* afetou a morfologia alar (forma) do mosquito.

#### 4. Discussões

A busca por alternativas menos impactante ao meio ambiente para o controle do *Ae. aegypti*, vêm sendo cada vez mais desenvolvida através dos óleos essenciais de espécies aromáticas (Anjos et al., 2018; Cunha et al., 2014; Da Cruz et al., 2017) como *Croton*, que por sua vez, se mostram eficazes como inseticidas naturais e demonstram não afetar organismos não-alvos, como camundongos (Da Silva Carvalho et al., 2016).

Os componentes responsáveis pela toxicidade sobre as larvas, tanto nas baixas (9,33% em 0,25 mg mL<sup>-1</sup>) e altas taxas de mortalidade (100% em 1,0 mg mL<sup>-1</sup>), pode então ser presumivelmente a presença de moléculas voláteis, a citar os hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados e sesquiterpênicos oxigenados (Anjos et al., 2018; Da Silva Carvalho et al., 2016), que foram encontrados em OEs de outras espécies de *Croton* e associadas a um bom desempenho como agentes inseticidas (Anjos et al., 2018; Da Cruz et al., 2017; Da Silva Carvalho et al., 2016).

O óleo essencial de *C. tetradenius* também indica sua presença nas larvas sobreviventes à exposição inicial durante a avaliação larvicida. Além disso, tendo em vista que a razão sexual também não seguiu as proporções esperadas (1:1), com exceção da concentração de 0,062 mg mL<sup>-1</sup> pode ser justificado porque também já são conhecidas propriedades inseticidas dos OEs de espécies *Croton* que atuam diretamente sobre larvas, adultos (Da Cruz et al., 2017) e possuem efeito deterrente em ovos do *Ae. aegypti* (De Lima et al., 2013).

A variação da forma da asa de mosquitos do gênero *Aedes* foi investigada em diferentes estudos (Phanitchat et al., 2019; Gomez et al 2014). Em um desses, observou-se que o efeito da temperatura altera a forma das asas dos insetos, e a forma das asas entre os sexos também podem ser diferentes, e, nesse caso, os machos sofrem com maiores deformações do que as fêmeas, em baixas temperaturas (Phanitchat et al., 2019). A comparação das asas de uma espécie de *Anopheles* também sugeriu que a forma da asa pode ser motivada pela elevação, umidade relativa, precipitação e eco-região (Gomez et al 2014).

Levando em consideração tais variáveis que podem alterar a forma das asas, e sabendo das propriedades do OE de espécies de *Croton*, como atividades inseticidas sobre o *Ae. aegypti*, a exemplo da ação larvicida (Anjos et al., 2018), larvicida e adulticida (Da Cruz et al., 2017; Da Silva Carvalho et al., 2016) e atividade inibidora sobre pupas (De Lima et al., 2013), os componentes bioativos do OE de espécies de *Croton*, a citar, a cânfora (Anjos et al., 2018; Da Cruz et al., 2017; Da Silva Carvalho et al., 2016; De Lima et al., 2013) espatulenol (Da Cruz et al., 2017; De Lima et al., 2013) β-pineno e β-phellandreno (Morais et al., 2006) já mencionados como tóxicos ao *Ae. aegypti*,

podem também ter sido os responsáveis por afetar a morfologia alar dos insetos, o que justificaria a segregação da forma das asas entre os grupos apresentados nesse trabalho.

*tetradenius* tem potencial para o desenvolvimento de um produto com finalidade inseticida. Esse trabalho é um estudo inovador na área da morfometria com vistas na avaliação do efeito de OEs sobre o vetor da dengue.

#### Financiamento

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) (bolsa 2019/2021).

#### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), a Fundação de Amparo a Pesquisa do da Bahia (FAPESB). Ao professor, Dr. Rodrigo Fornel da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai.

#### Referências

- Anjos, QQA, Silva, SLDC, Silva, DC, Gualberto, SA, Santos, FR, Carvalho, MG, & Sousa, DL. Chemical composition of the essential oil of the *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) aerial part and bioactivity on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in relation to different collection periods. *Periodico Tche Quimica*, 2018; 15(30), 364-379.
- Bhatt, S, Gething, PW, Brady, OJ, Messina, JP, Farlow, AW, Moyes, CL, ... & Myers, MF. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 2013; 496(7446), 504-507.
- Campos, EV, Proença, PL, Oliveira, JL., Bakshi, M, Abhilash, PC, & Fraceto, LF. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecological Indicators*, 2019; 105483-495.
- Chintapalli, RTV, & Hillyer, JF. Hemolymph circulation in insect flight appendages: physiology of the wing heart and circulatory flow in the wings of the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal of Experimental Biology*, 2016; 219(24), 3945-3951.
- Ciota, AT, Bialosuknia, SM., Ehrbar, DJ, Kramer, L D. Vertical transmission of Zika virus by *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes." *Emerging infectious diseases*, 2017;23.5: 880.
- Consoli, RA, & Oliveira, RLD. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. 1994; Editora Fiocruz.
- Cunha, SL, Gualberto, SA, Carvalho, KS, & Fries, D D. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Biotemas*, 2014; 27(2), 79-85.
- Da Cruz, RCD, Da Silva Carvalho, K, Costa, RJO, Da Silva, PA, e Silva, SLDC, Gualberto, SA, ... & de Souza, IA. Phytochemical and toxicological evaluation of a blend of essential oils of *Croton* species on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. *South African Journal of Botany*, 2020; 132, 188-195.
- Da Cruz, RCD, Silva, SLCE, Souza, IA, Gualberto, S A, Carvalho, KS, Santos, FR, e Carvalho, M G. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). *Journal of medical entomology*, 2017; 54.4: 985-993.
- Da Silva Carvalho, K e Silva, SLDC, de Souza, IA, Gualberto, SA, Da Cruz, RCD, dos Santos, FR, & de Carvalho, MG. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. *Parasitology research*, 2016; 115.9. 2016: 3441-3448.
- De Lima, GPG, de Souza, TM, de Paula Freire, G, Farias, DF, Cunha, AP, Ricardo, NMPS; Carvalho, AFU. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Parasitology Research*, 2013; 112(5), 1953-1958.

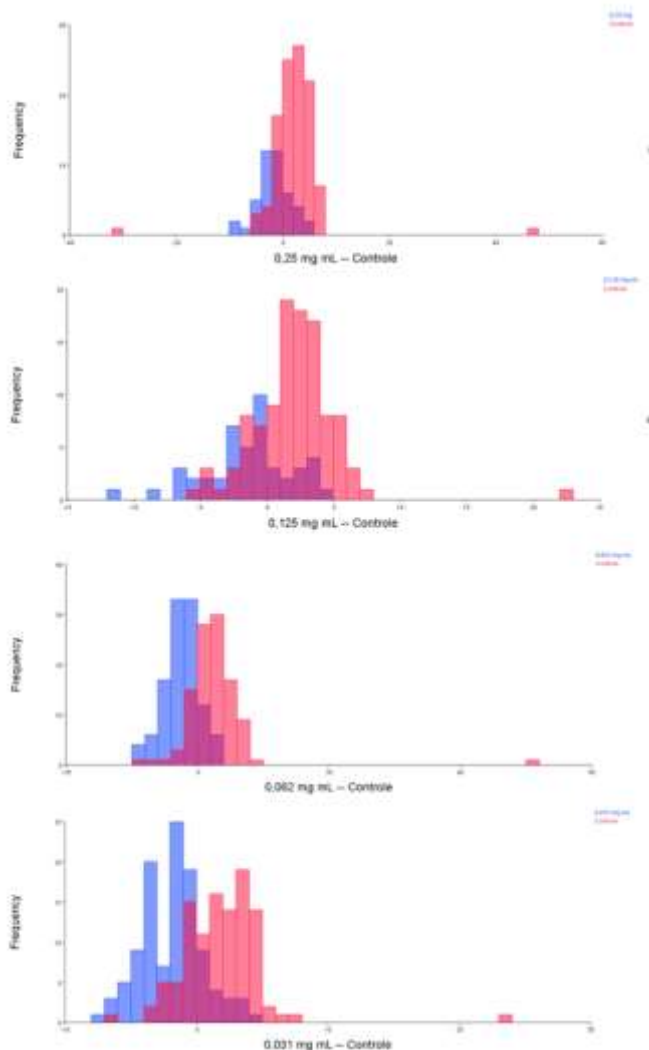


Figura 3. Regressão multivariada da forma da asa do *Aedes aegypti*.

## 5. Conclusão

Foi comprovada toxicidade larval do OE de *C. tetradenius* sobre o *Ae. aegypti*. É possível que o óleo afete a viabilidade larval, pupal e razão sexual. A morfometria geométrica alar do *Ae. aegypti* mostrou diferenças na forma das asas entre os indivíduos nos grupos do OE de *C. tetradenius*. O OE de *C.*

- De Souza, MA., da Silva, L, Macêdo, MJF, Lacerda-Neto, LJ, dos Santos, MAC, Coutinho, HDM, & Cunha, FAB. Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)—A review." *South African Journal of Botany*, 2019; 124: 160-165.
- Dryden, IL, e Mardia, KV. (Eds) *Statistical Shape Analysis*, 1998; Wiley: Chichester, UK.
- Forattini, OP, Kakitani, I, Santos, RLCD, Kobayashi, K M, Ueno, HM, e Fernández, Z. Potencial sinantrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 2000; 34, 565-569.
- Gómez, GF, Márquez, EJ, Gutiérrez, LA, Conn, JE, e Correa, MM. Geometric morphometric analysis of Colombian *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) reveals significant effect of environmental factors on wing traits and presence of a metapopulation. *Acta tropica*, 2014; 135: 75-85.
- Good, P. (Ed.) 'Permutation Tests: a Practical Guide to Resampling Methods for Testing Hypotheses.' 2000; (Springer: New York, NY, USA.).
- Goodall, CR. Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B, Statistical Methodology* 1991; 53, 285–339.
- Kantor, IN. Dengue, zika, chikungunya and the development of vaccines. *Medicina*, 2018; 78(1), 23-28.
- Klingenberg CP. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 2011; 11.2 353-357.
- Klingenberg, CP, Duttke, S, Whelan, S, Kim, M. Developmental plasticity, morphological variation and evolvability: a multilevel analysis of morphometric integration in the shape of compound leaves. *Journal of Evolutionary Biology*, 2012; 25,115–129.
- Klingenberg, CP., e GS. McIntyre. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, 1998; 52, 1363-1375.
- Lorenz, C, Marques, TC, Sallum, MAM, & Suesdek, L. Morphometrical diagnosis of the malaria vectors *Anopheles cruzii*, *An. homunculus* and *An. bellator*." *Parasites & vectors*, 2012; 5.1: 1-7.
- Lugones Botell, M, Ramírez Bermúdez, M. Infección por virus zika en el embarazo y microcefalia. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 2016; 42(3), 398-411.
- Morais, SM, Cavalcanti, ES, Bertini, LM, Oliveira, CLL, Rodrigues, JRB, e Cardoso, JHL. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2006; 22(1), 161-164.
- Oliveira, GMM, Ferreira, RM. Yellow fever and cardiovascular disease: an intersection of epidemics. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 2018; 110(3), 207-210.
- OPS/OMS. Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. La Paz: OPS/OMS, 2010; 152.
- Pan American Health Organization (PAHO). Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/dengue-and-severe-dengue#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/dengue-and-severe-dengue#tab=tab_1) 2020, Acesso em 17 de maio de 2020.
- Pan American Health Organization (PAHO). Casos reportados de dengue nas Américas. Disponível em: <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue/dengue-nacional/9-dengue-pais-ano.html> Acesso em 29 de agosto de 2021.
- Pang, T, Mak, TK, Gubler, DJ. Prevention and control of dengue—the light at the end of the tunnel. *The Lancet Infectious Diseases*, 2017; 17(3), e79-e87.
- Phanitchat, T, Apiwathnasorn, C, Sungvornyothin, S, Samung, Y, Dujardin, S, Dujardin, JP, e Sumruayphol, S. Geometric morphometric analysis of the effect of temperature on wing size and shape in *Aedes albopictus*." *Medical and veterinary entomology*, 2019; 33.4: 476-484.
- Rao, PSC, Baldwin, RS, & LB Laurent, MF. 1999. Pesticides and their behavior in the soil and water.
- Regnault-Roger, C, Vincent, C, & Arnason, JT. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual review of entomology*, 2012; 57, 405-424.
- Rohlf, FJ, e Slice, DE. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 1990; 39, 40– 59.
- Rohlf, FJ. The tps series of software." *Hystrix* 26.1 2015.
- Roiz, D, Wilson, AL, Scott, TW, Fonseca, DM, Jourdain, F, Müller, P, ... & Corbe LV. Integrated *Aedes* management for the control of *Aedes*-borne diseases. *PLoS neglected tropical diseases*, 2018; 12 (12).
- Salatino, A, Salatino, MLF, Negri, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian chemical society*, 2007; 18(1), 11-33.
- Santos, GKN, Dutra, KA, Lira, CS, Lima, BN, Napoleão, TH, Paiva, PMG, Maranhão, CA, Brandão, SSF, Navarro, DMA F, *Molecules*. 2014, 19(10),16573-16587.
- Santos, NSDO. New challenges in virology teaching. *Revista Pan-Amazonica de Saúde*, 2018; 9, 7-8.
- Torres, MCM., Assunção, JC, Santiago, GMP, Andrade-Neto, M, Silveira, ER, Costa-Lotufo, LV, Pessoa, ODL. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. *Chemistry & Biodiversity*, 2008; 5(12), 2724-2728.
- Vasconcelos, EAF, de Freitas Mesquita, AK., Citó, A MDGL, & Lopes, JAD. Variação química dos constituintes voláteis de *Vitex Agnus Castus* L (Verbenaceae) cultivada no Piauí-Brasil. *Vita et Sanitas*, 2013; 7(1), 123-134.
- Vidal, PO. Caracterização molecular e morfológica de populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) no estado de São Paulo. 2015. (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Wilk-da-Silva, R, de Souza Leal, MMC, Marrelli, M T, & Wilke, ABB. Wing morphometric variability in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from different urban built environments. *Parasites & vectors*, 2018; 11.1: 561.
- Xi, X, Yan, J, Quan, G, & Cui, L. Removal of the pesticide pymetrozine from aqueous solution by biochar produced from brewer's spent grain at different pyrolytic temperatures. *BioResources*, 2014; 9(4), 7696-7709.



## CONCLUSÃO GERAL

O interesse científico sobre as plantas medicinais, especialmente, espécies aromáticas, tem revalidado ser bastante diverso, desde fins medicinais a sanitários. O bioma da Caatinga é conhecido pela biodiversidade de plantas aromáticas, a qual, diversos estudos tem se voltado para o gênero *Croton*, devido aos seus compostos secundários que, conforme estudos recentes podem atuar como controle natural sobre o *Aedes aegypti*. Nesse sentido, diante da necessidade de novas ferramentas de controle populacional sobre o vetor, a espécie de *Croton tetradenius* se mostra bastante promissora para o desenvolvimento de produtos inseticidas, pois derivados dessa espécie, a exemplos dos OEs demonstram baixo impacto ambiental e menor risco sobre mamíferos. O trabalho atual comprovou que o OE de *C. tetradenius* é tóxico as larvas, possivelmente afeta a viabilidade larval, pupal e a morfometria alar do *Ae. aegypti*. O estudo da morfometria geométrica alar voltado para os efeitos dos OEs é inovador.

## ANEXO II

### Normas para a submissão na revista South African Journal of Botany

**INTRODUCTION** Official Journal of the South African Association of Botanists (<http://www.sabotany.com>)

The South African Journal of Botany publishes original papers that deal with the classification, biodiversity, morphology, physiology, molecular biology, ecology, biotechnology, ethnobotany and other botanically related aspects of plants.

#### *Types of Paper*

Reviews, Short-Reviews, Research Papers and Technical Notes will be considered.

*Reviews:* Review articles will be by Editor-in-Chief invitation only, but suggestions for Review topics may be forwarded to the Editor-in-Chief for consideration.

*Short-Reviews:* are reviews updating the scientific community on important advances in the plant sciences. They are not longer than 6 printed pages with no more than 40 references.

*Research Papers:* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere.

*Technical Notes:* these will not exceed two printed pages and include only one table or one figure.

### **BEFORE YOU BEGIN**

#### **Ethics in publishing**

Please see our information on Ethics in publishing.

#### *Declaration of competing interest*

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/ registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of competing interest statement using this template and upload to the submission system at the Attach/Upload Files step. Note: Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required. If there are no interests to declare, please choose the first option in the template. More information. Submission declaration and verification Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check. Preprints Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

### ***Use of inclusive language***

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

### ***Changes to authorship***

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum. Article transfer service This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal.

### ***Copyright***

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

### ***Author rights***

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information. Elsevier supports responsible sharing Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

### ***Role of the funding source***

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Open access Please visit our Open Access page for more information. Language (usage and editing services) Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

### ***Submission***

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

### ***Submit your article***

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/sajb/>. Referees A highly qualified Editorial Board, in collaboration with dedicated referees, ensures peer-reviewing of all manuscripts and the maintenance of international scientific standards. All submitted papers are refereed by a member of the Editorial Board and at least two independent referees. The Editor-in-Chief may, however, decide not to submit a manuscript for review if it is judged to be of poor quality, failing to meet the standards of SAJB with respect to science, language expression, presentation and/ or required style.

### ***Taxonomic treatment***

Descriptions of new species should form part of a revision of a genus or infrageneric taxon. If the author(s) can give a reasonable motivation why this is not possible, then new species descriptions will be considered for publication only as Research Notes, with a maximum of one title page and two additional pages per species (including illustrations and maps, both of which should preferably be designed for printing in single column width). The author(s) are encouraged to submit multiple new species from the same genus in one article. Only new species from the Flora of southern Africa region will be considered for publication.

Authors of botanical names are abbreviated according to Authors of Plant Names (Brummitt and Powell 1992, Royal Botanic Gardens, Kew). Authors should be given the first time a name is mentioned, or alternately in a table where all relevant names are listed (e.g., table of voucher specimens).

References cited in the protologue are abbreviated according to TL-2 and are not included in the literature cited.

The basionym and other homotypic combinations are arranged chronologically in the same paragraph. Heterotypic names are in separate paragraphs.

Herbarium acronyms follow Index Herbariorum.

Original type locality information in a foreign language or using archaic/outdated place names should be indicated using inverted commas, with any relevant corrections for modern usage, including conversions to metric units, added in square brackets.

When the collection date is known this data should be included in the type citation and preferably in the additional specimens examined. Months of the year are to be given as: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec.

GPS co-ordinates are to be excluded from all specimens cited.

**Examples:** Type: South Africa. Western Cape, Beaufort West (3222): 'Renosterkopf' [Renosterkop] (BB), 1850, Zeyher 854 (TCD, lecto.- image!, here designated; SAM!, P - image! [2 sheets], isolecto.).

Type: South Africa. Western Cape, Caledon (3419): Raterivier flats (-DC), 12 Feb 1958, Willems 19 (NBG, holo.!.; NBG!, K!, iso.).

Type: South Africa. Precise locality unknown: 'Cap. Bonae Spae' [Cape of Good Hope], Thunberg s.n.THUNB-UPS 20137 (UPS, holo. - microfiche!).

Type: South Africa. KwaZulu Natal, Stanger (2931): Natal, near 'Port Natal' [Durban] (-CC), Krauss 418 (MO, sheet with collection label in bottom left corner, lecto.!, here designated; BM!, K! [2 sheets], MO!, NBG!, S!, isolecto.).

Specimens examined are cited under each species treatment and arranged into paragraphs by country and within these paragraphs by Province. Within each Province the specimens are ordered according to the quarter-degree grid reference system (Leistner and Morris 1976) [see paragraph below] The following order of countries in the southern African region should be used: Namibia, Botswana, South Africa, Swaziland, Lesotho. Any other countries are to be listed at the end of this sequence. Within South Africa the provinces are arranged as follows: Limpopo, North-West, Gauteng, Mpumalanga, Free State, KwaZulu-Natal, Northern Cape, Western Cape and Eastern Cape.

Distributional data for each of the species should be recorded using Quarter Degree Grid Cells (outlined in Leistner and Morris 1976). In this system, the basic unit is the one-degree square of latitude and longitude, which is designated by a degree reference number (viz., degrees of latitude and longitude of the north-west corner) and the district name of that square.

## EXAMPLES:

### Additional specimens examined.

Botswana. **2615 (Luderitz):** Diamond Area No. 1, Sperrgebiet, south of Rotkuppe gate (-CD), 2 Aug 2001, Mannheimer 1391 (WIND); Road to Grillental from Kaukausib, Blue ridge (-DC), 5 Sep 2002, Mannheimer 2200 (WIND). **2715 (Bogenfels):** Diamond Area No. 1, en route from Tsabiams to Grillental (-BA), 5 Sep 2002, Bartsch, Loots and Mannheimer 1028 (WIND); Approach to Kaukausib Plain to south (-BA), 5 Sep 2002, Mannheimer 2195 (WIND); Sandy-gravel plain east of Kaukausib Fountain (-BA), 12 Sep 2005, Mannheimer 2769(WIND, JRAU); Karas district, Sperrgebiet, Kaukausib Drainage (-BA), 3 Mar 2007, Burke 7001 (PRE).

South Africa. WESTERN CAPE: **3218 (Clanwilliam):** Near Eendekuil, western foot of Piekenierskloof Pass (-DB), 28 Aug 2009, Magee, Boatwright, Manning and Goldblatt 161 (NBG, PRE, K, BOL). **3319 (Worcester):** Tulbagh (-AC), Sep 1919, Bolus 16734 (BOL); roadside near Gouda (-AC), 9 Sep 1951, Esterhuysen 18840 (BOL [3 sheets], K, PRE).

### *Biodiversity issues*

Each country has its own rights on its biodiversity. Consequently for studying plants one needs to follow the international, national and institutional rules concerning the biodiversity rights. All Editors and Authors are requested to ensure that suitable taxonomic works are cited in support of the identification of ANY organism named in their publications.

**New species descriptions** - Descriptions of new species should form part of a revision of a genus or infrageneric taxon. If the author(s) can give a reasonable motivation why this is not possible, then new species descriptions will be considered for publication only as Short Communications, with a maximum of one title page and two additional pages per species (including illustrations and maps, both of which should preferably be designed for printing in single column width). The author(s) are encouraged to submit multiple new species from the same genus in one article. Only new species from the Flora of southern Africa region will be considered for publication.

**Animal and clinical studies** - Investigations using experimental animals or products derived from animals must state in the Methods section that the research was conducted in accordance with the internationally accepted principles for laboratory animal use and care as found in for example the European Community guidelines (EEC Directive of 1986; 86/609/EEC) or the US guidelines (NIH publication #85-23, revised in 1985). Investigations with human subjects will not be published by the South African Journal of Botany. The Editors will reject papers if there is any doubt about the suitability of the animal procedures used.

## **PREPARATION**

### **Queries**

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our Support Center.

### **Peer review**

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. More information on types of peer review.

### *Use of wordprocessing software*

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format, double line spacing, 12 pitch font size and contain page and line numbering. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

### **Article structure**

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this

numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

*Material and methods* Any species or infraspecific taxon studied is to be referenced against appropriate literature used to identify the material concerned. Give full scientific name(s) of plant(s) used, as well as cultivar (cv.) or variety (var.) where applicable. All growth conditions should be properly described. Sufficient detail of the techniques used should be provided to allow easy repetition.

### *Results*

Results should be clear and concise. Do not include material appropriate to the

### *Discussion.*

Discussion This should highlight the significance of the results and place them in the context of other work. Do not be over-speculative or reiterate the results. If desired the Results and Discussion sections may be amalgamated.

### *Appendices*

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Highlights**

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: example Highlights.

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

### *Abstract*

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. It must not exceed 5% of the manuscript.

### *Abbreviations*

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### *Acknowledgements*

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

*Formatting of funding sources* List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

*Funding:* This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### *Footnotes*

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

### **Artwork**

Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.



- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed guide on electronic artwork is available. **You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### *Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

#### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

#### **Tables**

Please submit tables as editable text and not as images.

Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

#### **References**

##### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and

personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

*Web references* As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List.

Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

#### *Users of Mendeley Desktop*

can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/south-african-journal-of-botany> When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

#### *Reference style*

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
  2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
  3. Three or more authors: first author's name followed by "et al." and the year of publication.
- Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first chronologically, then alphabetically. Examples: "(Allan and Jones, 1995; Bown 1995; Allan, 1996a, 1996b, 1999);. Kramer et al. (2000) have recently shown...." List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

*Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. *Journal of Science Communication* 163, 51–59. Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. *The Elements of Style*, third ed. Macmillan, New York. Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

### **Video**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

#### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on

ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

#### *Data in Brief*

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into a data article published in Data in Brief. A data article is a new kind of article that ensures that your data are actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and made publicly available to all upon publication (watch this video describing the benefits of publishing your data in Data in Brief). You are encouraged to submit your data article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed, published open access and linked to your research article on ScienceDirect. Please note an open access fee is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief data article.

#### *MethodsX*

You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the MethodsX website. Please use this template to prepare your MethodsX article.

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

### *Submission checklist*

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
  - Full postal address
  - Telephone and fax numbers
  - All necessary files have been uploaded
  - Keywords
  - All figure captions
  - All tables (including title, description, footnotes)
  - Further considerations
  - Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
  - Manuscript should have numbered pages, and line numbering throughout the text and preferably continuous not starting at 1 on each page.
  - References are in the correct format for this journal
  - All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
  - Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
  - Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
  - If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes
- For any further information please visit our customer support site at [service.elsevier.com](http://service.elsevier.com).

## **AFTER ACCEPTANCE**

### ***Online proof correction***

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### ***Offprints***

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Author Services. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

### **AUTHOR INQUIRIES**

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.