



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

Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos da parte
aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Aedes aegypti*

FLÁVIA FERREIRA OLIVEIRA VIANA

Itapetinga-BA
Fevereiro - 2015

**Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos da parte
aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Aedes aegypti***

Flávia Ferreira Oliveira Viana

“Dissertação apresentada, como parte das exigências para 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”

Orientadora: D.Sc. Sandra Lúcia da Cunha e Silva.

Co-orientadora: D.Sc. Simone Andrade Gualberto.

Itapetinga-BA
Fevereiro – 2015

FLÁVIA FERREIRA OLIVEIRA VIANA

**Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos da parte
aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Aedes aegypti***

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Itapetinga, BA. Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Aprovada em: ____ / ____ / 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a). Sandra Lúcia da Cunha e Silva - UESB

Orientadora

Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva- UESB

Membro

Prof(a). Dr(a). Débora Cardoso da Silva - UESB

Membro

*Dedico este trabalho a Jesus, o autor e
consumador da minha fé. Ao único que é
digno de receber toda honra, toda
glória, todo louvor e toda adoração.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ti não há valor em mim, a tua presença é o meu maior valor.

Ao meu amado esposo Magno Viana Silva, pelo amor incondicional, pela amizade, compreensão, incentivo e colaborações prestadas. Esta vitória também é sua.

Ao meu filho Gustavo Oliveira Viana, ainda tão pequenino, mas já tendo que entender as minhas ausências e correrias para realização deste trabalho. Mamãe te ama.

À minha mãe Maria Célia Ferreira Oliveira, exemplo de força, determinação e trabalho. Obrigada por todo amor, cuidado e carinho dispensados ao meu filho nos momentos em que tive que me ausentar. Serei eternamente grata, por tudo.

À minha querida família (irmãos, sobrinhos, tios, primos, etc.), sempre torcendo pelo meu sucesso e se alegrando com as minhas conquistas.

À orientadora Profa. Dra. Sandra Lúcia da Cunha e Silva, pela orientação, apoio e confiança. Sua experiência me fez crescer não só academicamente, mas enquanto cidadã.

À co-orientadora Profa. Dra. Simone Andrade Gualberto, pela orientação, disposição, e contribuições dispensadas a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Genebaldo Sales Nunes (*In memoriam*), por todo apoio e orientação no primeiro semestre do mestrado.

À Geane Pereira de Oliveira, por todo apoio, amizade, incentivo e carinho.

Ao Ministério Kades, pela compreensão e orações feitas em meu favor.

À todos os membros do Laboratório de Pesquisa de Inseticidas Naturais (LAPIN) e do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LAPRON), especialmente a Karine Carvalho, Rômulo Dantas e Thaimara Gomes, pelos auxílios prestados, conhecimentos transmitidos, paciência e amizade.

Aos colegas de mestrado, especialmente a Maria Celeste Passos e Maísa Rocha, pelo convívio diário e pelos momentos de descontração.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, pelo apoio na realização do projeto.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de estudo e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição aos diferentes extratos aquosos obtidos da parte aérea fresca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	44
Tabela 2.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição aos diferentes extratos aquosos obtidos da parte aérea seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	45
Tabela 3.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de decocção.....	46
Tabela 4.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de decocção.....	47
Tabela 5.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de maceração.....	47
Tabela 6.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de maceração.....	48
Tabela 7.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de infusão.....	49
Tabela 8.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> pelo método de infusão.....	50
Tabela 9.	Concentração Letal 50 dos extratos aquosos obtidos da parte aérea fresca e seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i> , com 8 e 16 horas de exposição das larvas.....	51
Tabela 10.	Percentual de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações do	

	extrato etanólico obtido da parte aérea de <i>Aspidosperma pyryfolium</i>	53
Tabela 11.	Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de <i>Aspidosperma pyryfolium</i>	54
Tabela 12.	Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração hidroalcóolica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	55
Tabela 13.	Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica + acetato de etila obtida a partir do fracionamento da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> .	56
Tabela 14.	Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de <i>Aedes aegypti</i> , em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica + hexânica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	56
Tabela 15.	Concentração Letal 10, 50 e 90 do extrato etanólico e da fração diclorometânica obtidos da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> , sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i> , com 8 e 16 horas de exposição das larvas.....	59
Tabela 16.	Prospecção fitoquímica do extrato bruto etanólico obtido da parte aérea de <i>A. pyrifolium</i> e das frações hexânica, diclorometânica, acetato de etila e hidroalcóolica.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Larva de <i>Aedes aegypti</i>	19
Figura 2.	Pupa de <i>Aedes aegypti</i>	19
Figura 3.	Morfologia externa de um adulto macho de <i>Aedes aegypti</i>	20
Figura 4.	Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	21
Figura 5.	Imagens de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> : (a) Aspecto geral da planta; (b) Parte aérea.....	32
Figura 6.	Floresta Nacional Contendas do Sincorá (a) Imagem da entrada; (b) Imagem da Sede	32
Figura 7.	<i>Aspidosperma pyrifolium</i> : (a) Parte aérea fresca; (b) Parte aérea seca.....	33
Figura 8.	Imagens dos processos realizados para obtenção dos extratos aquosos com a parte aérea fresca de <i>A. pyrifolium</i> , o mesmo realizado com a parte aérea seca: (a) Decocção; (b) Infusão; (c) Maceração.....	34
Figura 9.	Fluxograma que apresenta a sequência metodológica adotada para a obtenção dos extratos aquosos e posterior realização da avaliação larvicida.....	35
Figura 10.	Imagens da metodologia adotada para obtenção do extrato etanólico: (a) Parte aérea seca de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> submersa em etanol; (b) Extrato etanólico filtrado; (c) Concentração do extrato etanólico em evaporador rotativo; (d) Extrato etanólico alocado em recipiente de vidro para evaporação do solvente.....	36
Figura 11.	Fluxograma que apresenta a sequência metodológica adotada desde a obtenção do extrato etanólico à avaliação larvicida, bem como à prospecção fitoquímica.....	37
Figura 12.	Imagem das quatro frações obtidas a partir do fracionamento do extrato etanólico: (a) Fração hexânica; (b) Fração diclorometânica; (c) Fração acetato de etila; (d) Fração hidroalcóolica.....	38
Figura 13.	Procedimento adotado para a avaliação larvicida dos extratos aquosos: (a) Com o material vegetal fresco; (b) Com o material vegetal seco.....	39
Figura 14.	Avaliação larvicida dos extratos aquosos obtidos pelos métodos de decocção, infusão e maceração em diferentes concentrações: (a) Infusão com o material vegetal fresco; (b) Maceração com o material vegetal fresco; (c) Decocção com o material vegetal fresco; (d)	

	Decocção com o material vegetal seco; (e) Maceração com o material vegetal seco; (f) Infusão com o material vegetal seco.....	40
Figura 15.	Avaliação preliminar do extrato bruto etanólico: (a) Aplicação das concentrações; (b) Larvas expostas às diferentes concentrações; (c) Observação da mortalidade larval.....	41
Figura 16.	Ilustração da avaliação larvicida do extrato etanólico.....	41
Figura 17.	Ilustração da avaliação larvicida da fração diclorometânica.....	42
Figura 18.	Ilustração da avaliação larvicida da fração hidroalcolica.....	42
Figura 19.	Ilustração da avaliação larvicida da fração diclorometânica + acetato de etila.....	43
Figura 20.	Ilustração da avaliação larvicida da fração diclorometânica + hexânica	44
Figura 21.	Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹ H) da fração hexânica da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	63
Figura 22.	Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹ H) da fração diclorometânica da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	64
Figura 23.	Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹ H) da fração acetato de etila da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	65
Figura 24.	Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹ H) da fração hidroalcolica da parte aérea de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	66

LISTA DE ABREVIATURAS

FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
LAFICAVE	Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores
LAPIN	Laboratório de Pesquisas de Inseticidas Naturais
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MS	Ministério da Saúde
NECAL	Núcleo de Estudo em Ciência de Alimentos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNCD	Plano Nacional de Controle da Dengue
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 OBJETIVOS.....	16
1.1.1 Objetivo geral.....	16
1.1.2 Objetivos específicos.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus,1762), (Diptera: Culicidae)	17
2.1.1 Morfologia e taxonomia.....	17
2.1.2 Ciclo de vida.....	21
2.1.3 Distribuição geográfica, importância epidemiológica e controle.....	23
2.2 A caatinga, a produção de metabólitos secundários e o controle de insetos.....	26
2.3 <i>Aspidosperma pyrifolium</i> (Martius, 1824) (Apocynaceae).....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Planta.....	31
3.1.1 Coleta e identificação do material botânico.....	31
3.1.2 Processamento do material vegetal.....	32
3.1.3 Obtenção dos extratos.....	33
3.1.3.1 Aquosos.....	33
3.1.3.2 Etanólico.....	34
3.1.4 Fracionamento do extrato etanólico.....	36
3.1.5 Prospecção fitoquímica.....	38
3.2 Ensaios biológicos – Atividade larvicida.....	38
3.2.1 Avaliação dos extratos aquosos.....	39

3.2.2 Avaliação do extrato etanólico e das frações.....	40
3.3 Análise estatística.....	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos.....	44
4.2 Avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico e das frações.....	53
5 CONCLUSÃO.....	67
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

RESUMO

VIANA, F. F. O. **Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Aedes aegypti***. Itapetinga - BA: UESB, 2015. 78 p. (Dissertação – Mestrado em Ciências Ambientais – Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento)*

A dengue é considerada a mais importante arbovirose que afeta o ser humano, sendo o *Aedes aegypti* o principal vetor desse vírus. O uso de inseticidas para controle desse vetor é imprescindível, em contrapartida a constante utilização desses produtos quando de origem sintética, tem ocasionado danos a saúde humana e à biodiversidade. Dessa forma, faz-se necessário a busca por métodos alternativos, a exemplo dos inseticidas botânicos, que possam ser utilizados como parte de um controle integrado, mas que ao mesmo tempo sejam biodegradáveis e mais seletivos. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade larvicida de extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Ae. aegypti*, bem como o fracionamento do extrato etanólico e a avaliação larvicida das frações obtidas. Para os bioensaios, utilizou-se larvas de terceiro estágio de *Ae. aegypti*, expostas a cinco diferentes concentrações dos extratos. O grupo controle foi composto de água deionizada e diluente. Foram utilizadas seis repetições por tratamento, com trinta larvas por repetição. Os resultados apontaram a maior toxicidade sobre larvas de *Ae. aegypti* do extrato aquoso da parte aérea fresca de *A. pyrifolium* obtido pelo método de maceração, cujo CL_{50} foi de 5,603%, após 16 horas de exposição das larvas ao extrato. A fração diclorometânica (CL_{50} e CL_{90} iguais a 3,085 e 6,739 mg mL⁻¹, respectivamente) foi mais tóxica quando comparada ao extrato etanólico (CL_{50} e CL_{90} iguais a 5,903 e 8,239 mg mL⁻¹, respectivamente), a fração hidroalcoólica (CL_{50} e CL_{90} iguais a 15,216 e 23,797 mg mL⁻¹, respectivamente) e aos compostos diclorometânico + acetato de etila (CL_{50} e CL_{90} iguais a 6,597 e 10,504 mg mL⁻¹, respectivamente) e diclorometânico + hexânica (CL_{50} e CL_{90} iguais a 5,354 e 7,310 mg mL⁻¹, respectivamente). Diante dos resultados pode-se apontar a parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* fonte promissora de substâncias larvicidas a serem utilizadas para o controle alternativo do *Ae. aegypti*.

Palavras-chave: Dengue, controle de vetores, Caatinga, inseticidas botânicos.

*Orientadora: Sandra Lúcia da Cunha e Silva, D.Sc. UESB e Co-orientadora: Simone Andrade Gualberto, D.Sc. UESB.

ABSTRACT

Evaluation of larvicidal activity of extracts obtained from the aerial part of *Aspidosperma pyrifolium* about *Aedes aegypti*

Dengue is considered the most important arboviral disease that affects humans, being *Aedes aegypti* the main vector of this virus. The use of insecticides to control this vector is essential, however the constant use of these products when synthetic origin, has caused damage to human health and the biodiversity. Thus, it is necessary to search for alternative methods, such as the botanical insecticides that may be used as part of an integrated control, but at the same time biodegradable and are more selective. In this sense, the present study was to evaluate the larvicidal activity of extracts obtained from the aerial part of *Aspidosperma pyrifolium* on *Ae. aegypti* and the fractionation of the ethanol extract and the larvicidal evaluation of the obtained fractions. For bioassays, we used third-stage larvae of *Ae. aegypti* exposed to five different concentrations of the extracts. The control group consisted of deionized water and solvent. Six replicates were used per treatment, with thirty larvae per repetition. The results showed the highest toxicity *Ae. aegypti* of the aqueous extract of the fresh shoots of *A. pyrifolium* obtained by maceration method, whose LC₅₀ was 5.603%, after 16 hours of exposure of larvae to extract. The diclorometânica fraction (LC₅₀ and LC₉₀ equal to 3.085 and 6.739 mg ml⁻¹, respectively) was more toxic compared to ethanol extract (LC₅₀ and LC₉₀ equal to 5.903 and 8.239 mg ml⁻¹, respectively), the hydroalcoholic fraction (LC₅₀ and LC₉₀ equal to 15.216 and 23.797 mg ml⁻¹, respectively) and the compounds dichloromethane + ethyl acetate (LC₅₀ and LC₉₀ equal to 6.597 and 10.504 mg ml⁻¹, respectively) and dichloromethane + hexane (LC₅₀ and LC₉₀ equal to 5,354 and 7,310 mg ml⁻¹, respectively). With the results can point to shoot *Aspidosperma pyrifolium* promising source of larvicides substances to be used for the alternative control of *Ae. aegypti*.

Keywords: Dengue, vector control, Caatinga, botanical insecticides.

1 INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga ocupa 11% do território nacional e se concentra, quase que exclusivamente, na região nordeste. Atualmente, esse bioma é reconhecido pela sua rica biodiversidade e pelo seu elevado potencial econômico e farmacológico, o que tem despertado o interesse da comunidade científica, voltando cada vez mais o foco de suas pesquisas para esse bioma. Sua flora é bastante utilizada na medicina humana e animal, e várias plantas típicas da região já são bem conhecidas e usadas pela população, até mesmo para o controle de artrópodes vetores de doenças, a exemplo do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), (Diptera: Culicidae), vetor do vírus da dengue.

O mundo moderno propicia diversos fatores que atuam na dispersão do *Ae. aegypti*, tais como: Urbanização acelerada com condições precárias de habitação e abastecimento de água; o crescente deslocamento de pessoas e cargas entre países, determinado pelo desenvolvimento dos meios de transporte e das relações econômicas no mundo globalizado; e as mudanças climáticas provocadas pelo aquecimento global, que influem no regime e duração das chuvas. Esses fatores também são preponderantes para a proliferação do mosquito no Brasil, assim como em muitos países do continente americano (COELHO, 2008).

O *Ae. aegypti*, conforme Forattini (2002), apresenta um ciclo de vida composto por quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto. Segundo Natal (2002), ao longo do tempo o mosquito desenvolveu em sua trajetória evolutiva um comportamento estritamente sinantrópico e antropofílico, sendo dentre os culicídeos a espécie mais associada ao homem. Sendo assim, a ocorrência e transmissão da doença devem-se a presença da pessoa humana e fatores socioambientais (TEIXEIRA *et al.*, 2006).

O crescente aumento de casos de dengue fez com que houvesse uma preocupação no sentido de controlar o *Ae. aegypti*, utilizando como estratégia o controle integrado, que alia a prevenção à vigilância entomológica. A prevenção se refere aos programas de educação, com o objetivo de mudar alguns hábitos humanos que contribuam para infestação do mosquito (WHO, 2012). No que diz respeito à vigilância entomológica, o método químico ainda é o mais empregado, sendo os inseticidas sintéticos a forma mais tradicionalmente utilizada para esse fim.

Contudo, o uso contínuo desses produtos pode apresentar efeitos indesejáveis comprometendo a saúde ambiental, devido a sua longa permanência no ambiente, além de

colaborar para a seleção de populações de insetos resistentes e também para o aparecimento de novas pragas (DONALÍSIO & GLASSER, 2002; CARVALHO *et al.*, 2004).

Diante dessa problemática, pesquisas estão sendo desenvolvidas na busca de métodos alternativos de combate ao vetor, a exemplo dos mosquitos transgênicos e da bactéria *wolbachia*. Outro método que tem despertado o interesse da comunidade científica é o uso de metabólitos secundários com atividade inseticida, em substituição aos defensivos sintéticos, conforme destacado por Barreto (2005).

Diante do exposto, diversos estudos têm sido conduzidos no intuito de obter substâncias inseticidas de origem botânica, com atuação sobre o *Ae. aegypti*, que sejam mais eficazes e ao mesmo tempo mais seletivos, viáveis economicamente e biodegradáveis (COSTA *et al.*, 2009; SELVARAJ & MOSSES, 2011; GOVINDARAJAN & SIVAKUMAR, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2014).

Dentre os gêneros de interesse destaca-se o *Aspidosperma*, pois, conforme relato de Oliveira (2009) suas espécies vegetais tem sido alvo de muitos estudos, nos quais já foram identificados em suas estruturas químicas diversos alcaloides. Segundo Luca & Pierre (2000), essa classe de substâncias de metabólitos secundários atua sobre o sistema nervoso central, sendo sua grande maioria utilizada como venenos ou alucinógenos. Algumas pesquisas realizadas com espécies desse gênero apresentaram potenciais agentes antimaláricos (PEREZ, 2002; BOURDY *et al.*, 2004; DOLABELA, 2012.).

No que diz respeito à atividade sobre insetos, estudos realizados com *Aspidosperma pyrifolium* (Martius, 1824) (Apocynaceae), demonstraram que os extratos etanólicos obtidos da casca do caule, dos frutos e das raízes apresentaram toxicidade sobre larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Plutellidae), (TRINDADE *et al.*, 2008a). O extrato etanólico da casca do caule de *A. pyrifolium* teve um efeito ovicida sobre *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Crambidae), além de apresentar ação repelente sobre o parasitoide *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1980) (Trichogrammatidae), (TRINDADE *et al.*, 2013). Segundo Melo *et al.* (2014), o pó fino obtido a partir da moagem dos ramos de *A. pyrifolium*, quando aplicado ao feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., reduziu significativamente a quantidade de adultos de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Bruchidae) emergidos, além de afetar a razão sexual, emergindo menos fêmeas.

Dessa forma, buscou-se, através desta pesquisa, avaliar se os extratos obtidos da parte aérea (folhas e fragmentos dos caules nos quais os pecíolos das folhas estão ligados) de

Aspidosperma pyrifolium possuem atividade inseticida sobre larvas de *Ae. aegypti*, no intuito de encontrar uma alternativa eficaz de controle e, ao mesmo tempo, menos agressiva à saúde humana e ao meio ambiente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade larvicida de extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre o *Ae. aegypti*.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a atividade larvicida dos extratos aquosos obtidos da parte aérea fresca e seca;
- b) Avaliar a atividade larvicida do extrato etanólico;
- c) Avaliar a atividade larvicida de frações obtidas a partir do fracionamento do extrato etanólico; e
- d) Realizar a prospecção fitoquímica preliminar do extrato etanólico e das frações obtidas a partir do fracionamento do extrato etanólico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), (Diptera: Culicidae)

A dengue é uma doença viral humana, de grande importância epidemiológica em todo o mundo. Segundo Brasil (2000) é causada por um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, com quatro sorotipos conhecidos (DEN1, DEN2, DEN3 e DEN4). O vírus é transmitido por mosquitos, sendo o principal vetor nas Américas o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (BRASIL, 2005). As condições socioambientais, como o processo de urbanização, a deficiência da infraestrutura social e os hábitos da população contribuíram para a dispersão do vetor, e, conseqüentemente, o avanço da doença (PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DO DENGUE, 2002; FORATTINI, 2002).

Segundo Barata *et al.* (2007) o *Ae. aegypti* é hoje considerado a principal espécie dentre os culicídeos de área urbana, responsável pela transmissão do vírus da dengue, sendo ainda potencial vetor do vírus da febre amarela, o que demanda a necessidade de uma constante vigilância e controle dessa espécie em todo território nacional.

2.1.1 Morfologia e taxonomia

A família *Culicidae* compreende mosquitos pertencentes à ordem *Diptera*, da classe *Insecta*, que abrange aproximadamente 3.600 espécies distribuídas em 38 gêneros e duas subfamílias: *Anophelinae* e *Culicinae* (FORATTINI, 2002). A subfamília *Culicinae* é distribuída em 35 gêneros, dos quais 22 são encontrados nas Américas e 12 são exclusivos desta, apresentando em geral arbovírus causadores de doenças como dengue, febre amarela e ainda encefalites rígidas (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

Os mosquitos são geralmente de pequeno porte, corpo delgado, de pernas longas, que são facilmente reconhecidos pelo probóscis alongado (tromba) e a presença de manchas brancas na maioria das partes do corpo. As larvas diferem-se de outros insetos aquáticos pela ausência de pernas, apresenta uma cabeça distinta tendo escovas boca e antenas, um tórax bulboso que é maior do que a cabeça e abdome, posterior papilas anal e também um par de

aberturas respiratórias (subfamília Anophelinae) ou um sifão alongado (subfamília Culicinae) suportados próximo da extremidade do abdome (FORATTINI, 2002; HARBACH, 2011).

Na subfamília Culicinae encontra-se o *Ae. aegypti*, medindo cerca de 3 a 6 mm, com coloração escura, rajado com listas brancas no corpo e nas patas.

Os ovos dos culicídeos medem cerca de 1 mm de comprimento, alongados ou de forma aproximadamente ovóide. São envolvidos por uma casca impermeável, que é composta de três camadas: uma membrana vitelina fina (que envolve o núcleo, o citoplasma e o vitelo), o endocório (que é duro e grosso) e o exocório (fino e transparente e que constitui o invólucro externo). O exocório, geralmente, apresenta ornamentações que auxiliam na identificação da espécie. No cório existe um orifício no qual o espermatozóide penetra para fecundar o óvulo (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

No que diz respeito ao corpo da larva, o mesmo divide-se em cabeça, tórax e abdome (**Figura 1**). A cabeça e o tórax são globosos, o abdome é cilíndrico e apresenta-se dividido em 8 segmentos aparentes e mais 2 reduzidos e modificados em ânus e genitália externa. Ainda com relação a cabeça, esta é provida de um par de antenas e um par de olhos compostos. No que tange ao aparelho bucal, este é classificado como mastigador-raspador. No oitavo e último segmento localiza-se o sifão respiratório: curto, grosso e escuro. No sifão encontra-se de cada lado uma fileira de espinhos conhecida como pecten. No último segmento termina-se o tubo digestivo da larva. Neste segmento, encontra-se um tufo de sedas (escova ventral), a sela que pode ser completa ou incompleta e na sua extremidade, em redor do ânus, encontram-se as papilas anais (LOZOVEI, 2001; FORATTINI, 2002).

A pupa está dividida em cefalotórax (cabeça + tórax) e abdome, podendo ser observada com o aspecto de uma vírgula (**Figura 2**). No cefalotórax encontram-se as trompetas respiratórias e também os olhos, sendo estes compostos. O abdome apresenta-se com oito segmentos visíveis. Cada segmento contém inúmeras sedas curtas e o último apresenta em seu término um par de estruturas ovais e achatadas chamadas de palhetas natatórias (FUNASA, 2001; FORATTINI, 2002).

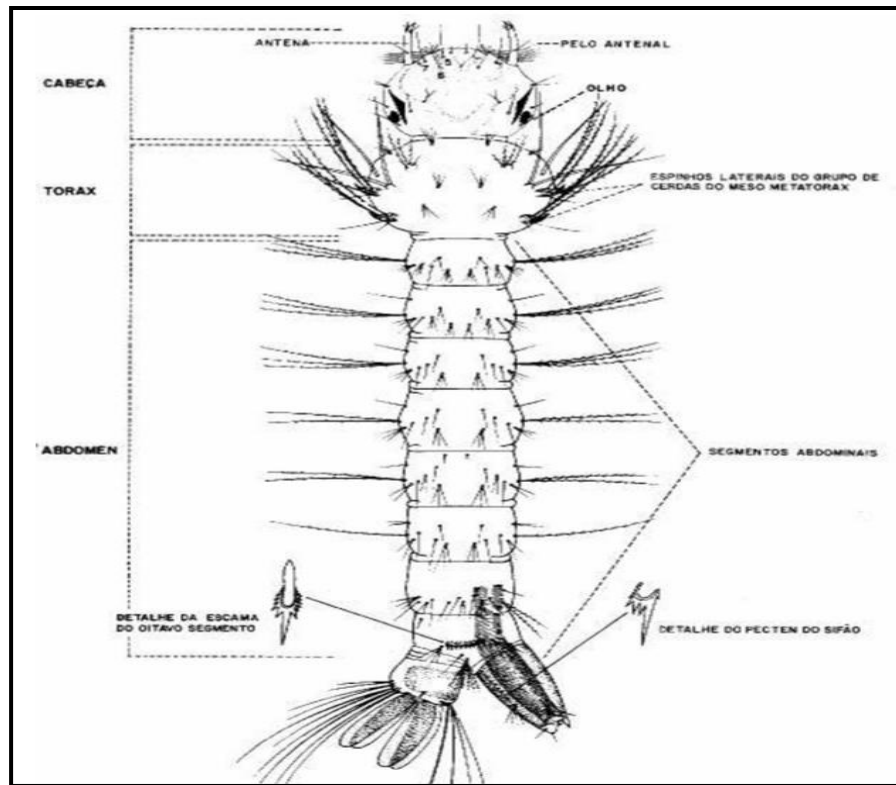


Figura 1 - Larva de *Aedes aegypti*. (Fonte: Funasa, 2001).

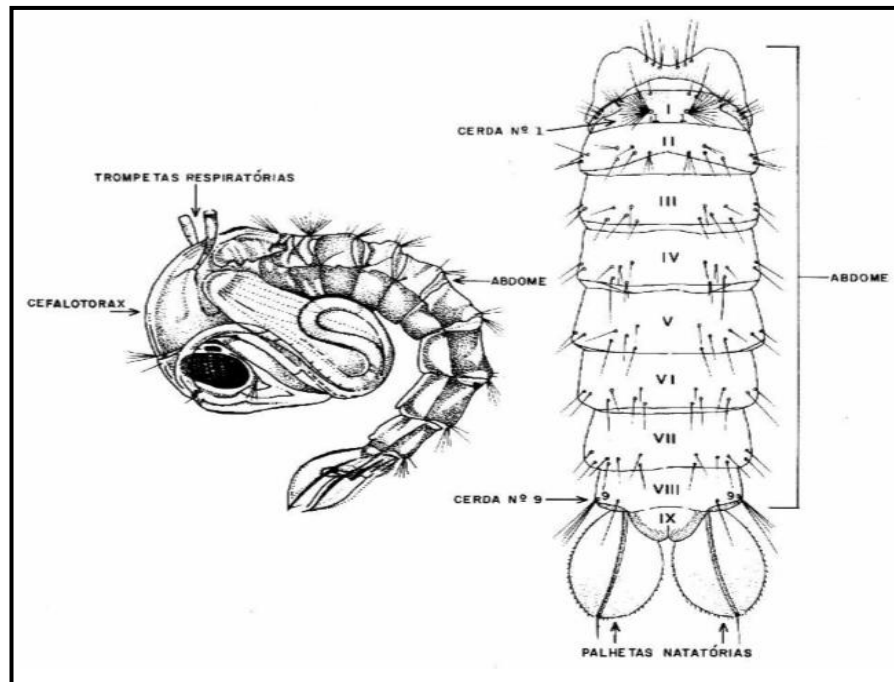


Figura 2 - Pupa de *Aedes aegypti*. (Fonte: Funasa, 2001).

Os adultos são mosquitos pequenos e delgados. O corpo encontra-se dividido em cabeça, tórax e abdome (**Figura 3**). A cabeça é globosa e possui um par de olhos compostos (SATHE & GIRHE, 2002). Entre os olhos está presente um par de antenas longas, que caracteriza a distinção do sexo da espécie por ser pilosas nas fêmeas e plumosas nos machos, além destes apresentar também palpos mais longos localizados abaixo das antenas. Entre os palpos aparece o probóscide alongado (tromba), projetado para frente. Nas fêmeas o probóscide é do tipo picador-sugador e é dotado de seis estiletos: o labro, um par de mandíbulas, um par de maxilas e a hipofaringe. No tórax encontra-se as asas e as patas. Na face dorsal do tórax encontra-se o escuto e, atrás deste, o escutelo. As asas são longas e estreitas, sendo que a quantidade e disposição das suas nervuras não difere entre as espécies de mosquitos. As patas dos mosquitos são longas e delgadas e estão dotadas de coxa, trocanter, fêmur, tíbia e tarso, sendo este último constituído por cinco tarsômeros. O abdome é composto de dez segmentos, mas apenas os sete ou oito primeiros são visíveis. O último segmento abdominal da fêmea termina com um par de cercas enquanto nos machos existe um par de artículos, um basal e outro distal, o gonocoxito e o gonostilo, respectivamente (FORATTINI, 2002; SATHE & GIRHE, 2002).

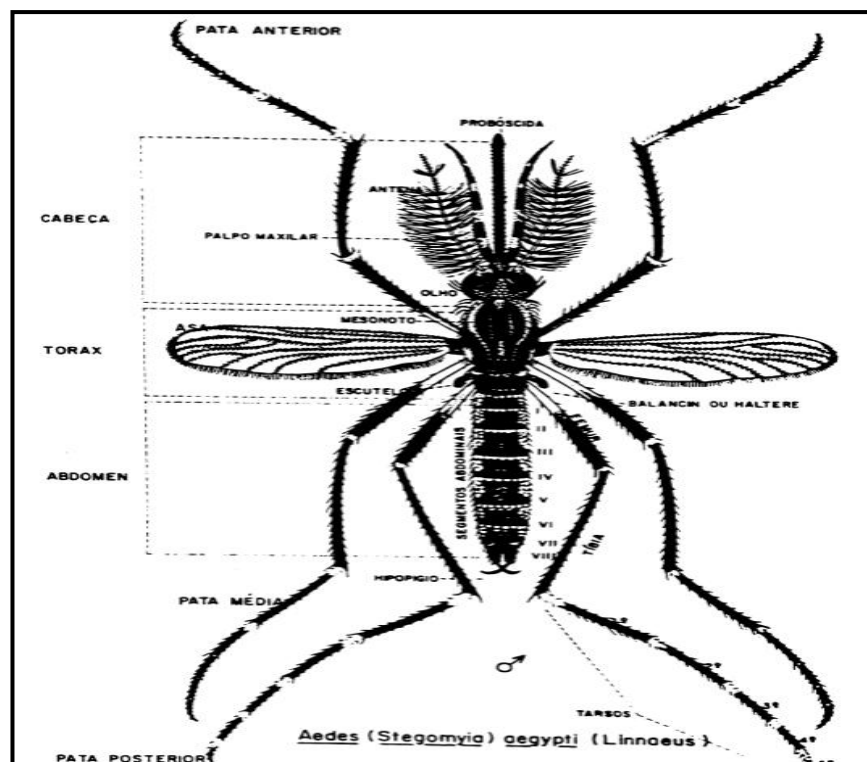


Figura 3 - Morfologia externa de um adulto macho de *Aedes aegypti*. (Fonte: Funasa, 2001).

2.1.2 Ciclo de vida

O *Ae. aegypti* apresenta metamorfose completa em seu ciclo de vida evolutivo, por isso é conhecido como holometábolo. Apresentam um ciclo de vida composto por quatro fases: ovo, larva (quatro estádios larvais), pupa, os quais fazem parte da fase aquática e o adulto, representando a fase terrestre (**Figura 4**) (FORATTINI, 2002).

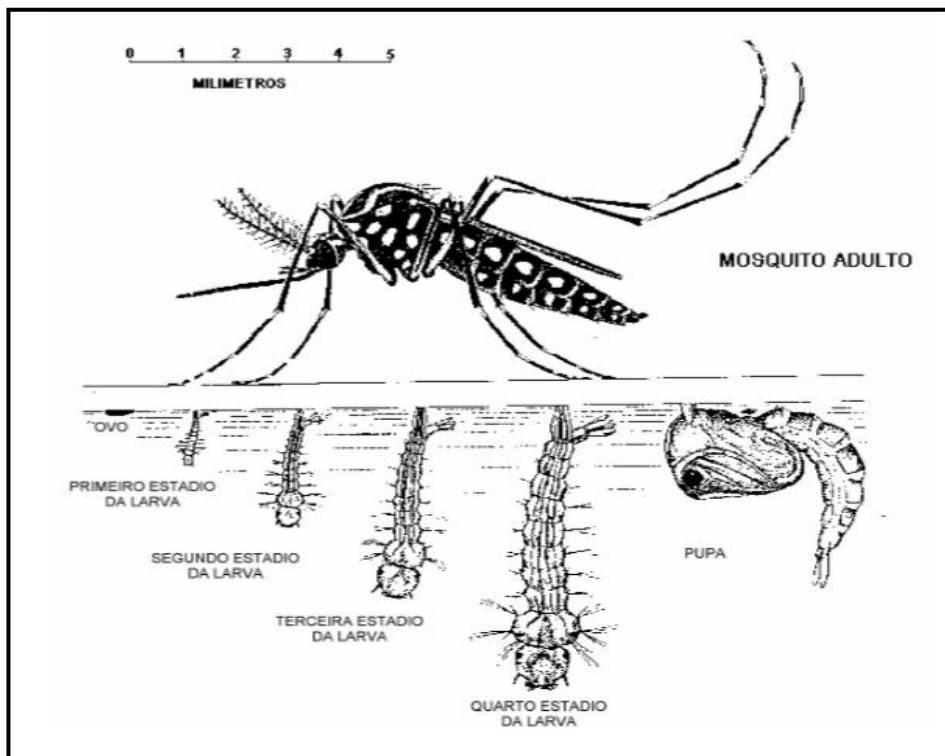


Figura - 4: Ciclo de vida do *Aedes aegypti*. (Fonte:< <http://dengue.cecom.unicamp.br/wp-content/uploads/2014/07/AEDES-AEGYPTI.gif>>). Acesso em: 27 de jul. 2014.

Ovo:

Os ovos de *Ae. aegypti* são elípticos, alongados e fusiformes com aproximadamente 1mm de comprimento. Inicialmente são brancos, mas após cerca de duas horas tornam-se quase negros. A oviposição é realizada nos mais diversos substratos e o número de posturas está diretamente relacionado com a quantidade de sangue ingerido pela fêmea do mosquito. A fecundação ocorre durante a postura e o desenvolvimento do embrião se completa em 48 a 72 horas, desde que haja condições climáticas favoráveis.

Ao final do processo do desenvolvimento embrionário, os ovos podem então resistir a longos períodos de dessecação, podendo prolongar-se por até mais de um ano. Esse fator contribui diretamente para a difícil erradicação do *Ae. aegypti*, esta resistência facilita o transporte desses ovos através de recipientes e até mesmo de serem dispersos através dos ventos (FUNASA, 2001).

Larva:

As larvas são alongadas, vermiformes, esbranquiçadas. Habitam quaisquer locais que possam acumular água podendo enfrentar as mudanças rápidas de salinidade. A fase larval apresenta-se em quatro estágios evolutivos (L1, L2, L3 e L4). Sob condições apropriadas, o período entre a eclosão do ovo e a pupação não excede cinco dias, entretanto, se as condições de temperaturas não forem apropriadas, ou ainda houver escassez de alimento, o 4º estágio larvário pode prolongar-se por várias semanas, antes de sua transformação em pupa. (FUNASA, 2001).

Pupa:

O estágio pupal corresponde a um período de transição entre a fase aquática e a terrestre. Não requer alimentação e a sua duração aproximada é de dois a três dias. É nessa fase que ocorrem as modificações necessárias para o surgimento do adulto (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

Adulto:

Um mosquito adulto vive na natureza por aproximadamente 30 a 35 dias. Sua capacidade de dispersão pelo vôo é muito pequena, quando comparada com a de outras espécies, por isso é bastante comum que a fêmea do mosquito passe toda sua vida nas proximidades do local de onde eclodiu, contanto que haja hospedeiros. Raramente a dispersão pelo vôo excede os 100 metros. Contudo, já foi demonstrado que uma fêmea grávida pode voar até 3 Km na procura de um local adequado para a oviposição, quando não há recipientes apropriados nas proximidades (FUNASA, 2001). A oviposição é feita em criadouros artificiais, em geral em pequenas coleções de água limpa e parada, localizadas nas proximidades das casas, no entanto o seu desenvolvimento também pode ocorrer em água

poluída. A oviposição é realizada nas paredes dos recipientes, imediatamente acima da superfície da água, onde os ovos podem ser vistos como pequenos pontos escuros.

Somente as fêmeas dos mosquitos *Ae. aegypti* se alimentam de sangue, pois precisam deste para o desenvolvimento dos ovos (FORATTINI 2002; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 2005). A busca por esse alimento ocorre nas primeiras horas do dia e ao anoitecer. Segundo o Ministério da Saúde, no momento do acasalamento, uma única inseminação é suficiente para fecundar todos os ovos que a fêmea venha a produzir durante toda sua vida (FUNASA, 2001). É denominado mosquito urbano, com preferência por áreas fechadas, próximas ao chão. A temperatura mais apropriada para o seu desenvolvimento é entre 25° e 30°C.

2.1.3 Distribuição geográfica, importância epidemiológica e controle

O *Ae. aegypti*, popularmente conhecido como mosquito da dengue, é uma espécie originária do Egito, tendo proliferado pelo mundo nos séculos XV e XVI, advindos da costa leste da África (TIMERMAN *et al.*, 2009), e que, provavelmente, foi trazido ao Brasil durante o descobrimento com o tráfico de escravos (FUNASA, 2001; REY, 2001).

Fatores ambientais ligados à forma de ocupação do espaço geográfico e ao clima, principalmente chuva e temperatura, podem influenciar a dinâmica populacional do *Ae. aegypti* e, conseqüentemente, o contexto da reemergência da dengue (GUBLER & CLARK, 1995; GUBLER, 2001). Devido a sua fácil adaptação a criadouros artificiais o controle desse vetor torna-se bastante difícil (TAUIL, 2002).

No Brasil, o *Ae. aegypti* chegou a ser considerado erradicado, todavia foi reintroduzido no Pará (PA) em 1967, detectado em Salvador (BA) em 1976, atingindo também o Rio de Janeiro (RJ) em 1977. Em 1990 o país chegou a apresentar 80% dos casos de dengue epidêmica notificados nas Américas, sendo a ocorrência em 24 estados e no Distrito Federal (SCHATZMAYR, 2000). Sabe-se que a sua ocorrência já foi registrada em todos os países da América, com exceção do Canadá, sendo que no Brasil esse vetor já foi localizado em todo o território. Ocupa as faixas tropical e subtropical da Terra, com altitude aproximada de 1000 metros, sendo ainda limitado a temperatura de 10°C (FUNASA, 2001).

As conseqüências da doença no hospedeiro humano ao contrair o vírus da dengue, pode apresentar-se de duas formas: a clássica e a hemorrágica. A clássica se comporta de maneira súbita, sem grandes complicações, vindo logo em seguida uma melhora progressiva.

A hemorrágica, forma mais grave da doença, que além de apresentar todos os sintomas da forma clássica, após o quinto dia de infecção ocorre sangramento e hemorragias em vários órgãos, podendo ocasionar à morte (TAUIL, 2001; BRASIL, 2000).

Tanto os aspectos urbanos como os agentes etiológicos fazem parte do ciclo que envolve o mosquito *Ae. aegypti* e o ser humano. Este culicídeo mantém hábitos diurnos e com considerável grau de antropofilia, assumindo assim aspecto domiciliado. Segundo Donalísio e Glasser (2002), uma vez que a fêmea do *Ae. aegypti* foi infectada, esta assim permanece por toda a sua vida, ainda que realize repastos em humanos inúmeras vezes, fator esse que contribui para o maior potencial de disseminação da virose, visto que o mosquito realiza vários repastos antes de completar seu ciclo gonotrófico.

A situação epidemiológica no continente é crítica, visto que a doença atua em diversos países, e ocasiona prejuízos irreversíveis como muitos óbitos, além de um custo político e social relevante. Dessa forma, a dengue tornou-se na atualidade umas das mais importantes doenças reemergentes do mundo (COELHO, 2008; CARVALHO *et al.*, 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que o número de pessoas infectadas pelo vírus do dengue pode chegar a 50 milhões de casos em todo o mundo (WHO, 2009)

Segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (2009), no ano de 2009, as notificações provindas dos casos suspeitos de dengue totalizaram 529.237, e ainda 2.271 casos confirmados de Febre Hemorrágica. No ano de 2010, esse número aumentou, sendo que somente os registros realizados durante os meses de janeiro a julho quantificavam 942.153 casos suspeitos de dengue, com 482.284 casos confirmados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A remoção ou destruição de criadouros, a utilização de agentes de controle biológico em caixas d'água, cisternas e tambores de metal, assim como a participação da comunidade constitui um componente essencial da rotina de controle do *Ae. Aegypti* (WHO, 2006).

Apesar de haver pesquisas em andamento, ainda não existe vacina contra o vírus da dengue (WHITEHEAD *et al.*, 2003; ROTHMAN, 2004). Para tanto, a única forma de combater a dengue foca-se no controle do vetor.

Durante a Segunda Guerra Mundial, com a grande infestação de algumas pragas e insetos, houve a necessidade da busca de novos pesticidas que atuassem no controle destas. Nesse período ocorreu a descoberta de novos inseticidas químicos, como o DDT (dicloro

difenil tricloroetano), um organoclorado que passou a ser considerado um inseticida potente atuando em substituição aos demais. O DDT foi utilizado pela primeira vez para controle de populações de mosquito em 1946, sendo identificada no ano seguinte a resistência a este composto em duas espécies, *Aedes tritaeniorhynchus* e *Aedes sollicitans* (BROWN, 1986).

No Brasil, os inseticidas químicos mais utilizados são os fosforados, carbamatos e piretróides. No entanto, a resistência do *Ae. aegypti* ao temefós vem sendo relatada em diversas localidades brasileiras, sendo então substituído pelo diflubenzuron, um inibidor da síntese de quitina, no controle de larvas do mosquito (LUNA *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2006; BESERRA *et al.*, 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Quanto à ação desses compostos no organismo dos insetos, acontece da seguinte forma: Os clorados agem sobre o sistema nervoso, fazendo com que haja um desequilíbrio na entrada e saída de íons da membrana dos neurônios, comprometendo assim a transmissão dos impulsos nervosos. Os organofosforados são derivados do ácido fosfórico, causa inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase, mediador químico nas transmissões nervosas. Os carbamatos, derivados do ácido carbâmico possuem ação colinesterásica que se assemelha aos fosforados, porém a inibição da enzima é reversível podendo voltar a sua função normal com a suspensão da fonte de inibição. Os piretróides atuam sobre a membrana dos neurônios, comprometendo a condução dos impulsos nervosos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

No entanto, o desenvolvimento de resistência em uma população de mosquitos sob pressão de inseticidas é bastante comum, pois a mortalidade ocorre somente nos indivíduos suscetíveis, e aqueles considerados mais resistentes acabam sobrevivendo, transferindo essa capacidade de resistência para os seus descendentes (DONALÍSIO & GLASSER, 2002), necessitando assim de outras medidas alternativas que contribua no controle do vetor. Além disso, o uso excessivo desses compostos apresenta inúmeras desvantagens, uma vez que são bioacumulativos favorece a contaminação ambiental comprometendo a saúde genérica da fauna, e ainda podem ficar retidos no tecido vivo e passar a fazer parte da cadeia alimentar, pondo em risco a saúde humana (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Diante dessa problemática, pesquisas buscando métodos alternativos que sejam menos impactantes a saúde humana, ao meio ambiente e viáveis economicamente ganharam novo impulso, a exemplo dos inseticidas botânicos.

2.2 A Caatinga, a produção de metabólitos secundários e o controle de insetos

O Brasil se encontra entre os 17 países mais ricos em biodiversidade, possuindo seis biomas terrestres e três grandes ecossistemas marinhos, sendo ainda conhecido por ser dono da flora mais rica do mundo, com cerca de 55.000 mil espécies de plantas catalogadas como existentes no país, além de 524 espécies de mamíferos, 1.677 de aves, 517 de anfíbios e 2.657 de peixes. Todos esses fatores, incluindo a sua extensão territorial, diversidade geográfica e climática, fazem com que o nosso país abrigue uma imensa diversidade biológica, tornando-o o maior país detentor de megadiversidade do Planeta (LEWINSOHN & PRADO, 2000; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2002; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011).

Dentre os biomas, a Caatinga é o único ecossistema exclusivamente brasileiro, ocupando uma área de aproximadamente 845 mil km, cerca de 11 % do território nacional, sendo que 70% desse total concentra-se na região Nordeste, abrangendo, assim, nove estados, cobrindo a maior parte do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e a parte do norte de Minas Gerais (PRADO, 2003; LEAL *et al.*, 2005).

A vegetação da Caatinga é caracterizada por possuir arbustos e árvores de pequeno porte como cactos, bromeliáceas, sendo estas resistentes às drásticas condições climáticas como, por exemplo, solo árido e a altas temperaturas.

O termo “Caatinga” tem sua origem do Tupi-guarani que significa “Mata Branca”, o qual descreve o aspecto de sua vegetação na estação seca, período em que a mesma perde as folhas deixando à mostra seus troncos esbranquiçados (PRADO, 2003). No que diz respeito a estação chuvosa, esta é intensa e irregular, com aproximadamente quatro a cinco meses de duração, resultando assim em um balanço hídrico negativo para oito a nove meses do ano. Como consequência disso, o solo é compacto e duro, e a escassez de água na região dificulta a fotossíntese e faz com que a resiliência proveniente da interferência humana do bioma seja muito pequena (FIGUEIREDO *et al.*, 2012; TOLEDO, 2013).

Uma análise comparativa realizada pelo quarto Relatório Nacional do Brasil para a Convenção sobre Diversidade Biológicas prevê um clima futuro mais quente e úmido para região nordeste até o final do século XXI, substituindo a Caatinga por uma vegetação mais árida. Um dos motivos para esse fator é o desmatamento da Amazônia que impactará significativamente no semiárido tornando-o mais seco. Como consequência de temperaturas

mais altas, o déficit hídrico, que já é grande, tende a crescer (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011).

Toledo (2013) estipula que apenas 54% do bioma esteja conservado, sendo a Bahia, Ceará, Piauí e Pernambuco os estados que mais desmataram. Para Silva et al. (2004a), 20% da cobertura florestal da Caatinga está em bom estado, enquanto 40% foi cortada para lenha ou removidos para a agricultura ou pecuária e 15% mostra altos níveis de degradação, situação esta que se não provocar nas pessoas uma mobilização a fim de buscar meios de realizarem a reestruturação do local, poderá causar a desertificação do bioma, ocasionando assim a falência da paisagem natural, e, conseqüentemente, perda na qualidade de vida da população.

Por muito tempo a Caatinga teve sua imagem botânica desvalorizada e vista como uma diversidade muito baixa de plantas, sem espécies endêmicas e muito modificadas pelas ações antrópicas. No entanto nos últimos anos a Caatinga tem atraído muita atenção, mudando a concepção de todos em relação à exuberância de sua vegetação. Segundo Guimarães et al. (2013), cerca de 932 espécies vegetais foram registradas na região, sendo 380 endêmicas do bioma.

Entre uma gama de pesquisas realizadas nesse bioma, destaca-se às voltadas para os metabólitos secundários produzidos por algumas espécies, pois como ressalta Dewick (2009) esses compostos são altamente bioativos, e muitos medicamentos têm como origem moléculas orgânicas procedentes dessas substâncias.

Diante do exposto, a Caatinga tem sido fonte de estudos etnofarmacológicos a exemplo da espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira, onde pesquisas têm atestado cientificamente propriedades anti-inflamatória da mesma, a saber: Goes et al. (2005) e ainda Souza et al. (2007).

Além de efeitos farmacológicos, a flora da Caatinga tem revelado também um grande potencial inseticida. Garcez et al. (2013), chama a atenção para a atividade inseticida dos metabólitos secundários, visto que cada planta apresenta estruturas químicas diferentes, dessa forma apresentarão ações divergente sobre os insetos.

Os alcaloides, por exemplo, são bastante conhecidos devido a presença de propriedades biológicas importantes, a exemplo do seu efeito fago-inibidor e tóxico em muitos insetos (CHIESA & MOYNA, 2004).

Os terpenos compreendem uma grande abundância de substâncias de origem vegetal e sua importância ecológica como defensivos de plantas já se encontra bem estabelecida.

Algumas características referentes a atividades como inibição ou retardo de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta já foram observadas através de estudos desses compostos (JUNIOR, 2003).

Os taninos são compostos fenólicos, que possuem propriedades como a de ser bastante solúveis em água sendo também capazes de precipitar proteínas. Os taninos condensados apresentam atividade tóxica para os insetos, devido à habilidade de ligar-se às proteínas digestivas e outras macromoléculas, além de propiciar efeito antimicrobiano e antifúngico (SIMÕES *et al.*, 2001).

Os flavonoides desempenham importantes funções nos vegetais e apresentam diversas atividades biológicas, por exemplo, a proteção contra fungos, bactérias e insetos (SILVA *et al.*, 2014).

Isman (2006) e Navarro-Silva *et al.* (2009), relatam sobre a diversidade de compostos ativos das espécies botânicas que segundo eles agem sinergicamente, apresentando características capazes de serem empregados em sistemas de manejo integrado de pragas, como alternativas no controle e monitoramento das populações de mosquitos.

Trindade *et al.* (2008b) também destacam o uso dos produtos vegetais, relatando o seu potencial sobre os insetos, sendo que estes são capazes de desenvolver ações como repelência, inibição da alimentação, oviposição e do crescimento, alterações morfogênicas, no sistema hormonal, e ainda no comportamento sexual e também a esterilização de adultos, fatores esses que contribuem para um aumento na mortalidade dos mesmos.

Com relação ao *Ae. aegypti*, diversos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de avaliar o potencial inseticida de espécies de plantas da Caatinga. Cavalheiro *et al.* (2009), demonstrou o potencial larvicida do extrato aquoso de *Caesalpinia ferrea* Mart. sobre o *Ae. aegypti*, Silva *et al.* (2014) avaliou a atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. sobre larvas de *Ae. aegypti* e Oliveira *et al.* (2014) estudou a atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *croton linearifolius* sobre *Ae. aegypti*.

2.3 *Aspidosperma pyrifolium* (Martius, 1824) (Apocynaceae)

A família Apocynaceae possui aproximadamente 355 gêneros e 3700 espécies, com distribuição tropical e subtropical, com poucos gêneros ocorrendo em regiões temperadas

(JUDD *et al.*, 2009). Aproximadamente 95 gêneros e 850 espécies são encontradas no Brasil (SOUZA & LORENZI, 2008). Esta família é ainda conhecida pela presença frequente de alcaloides em suas estruturas químicas (PEREIRA *et al.*, 2007), fator este que faz de suas espécies uma fonte importantíssima de estudos voltados para o isolamento dos compostos químicos, que por sua vez, podem ser bastante úteis para medicina (DI STASI & HIRUMALIMA, 2002).

As espécies pertencentes ao gênero *Aspidosperma* são consideradas produtoras de madeiras nobres de grande durabilidade (FUMAGALI *et al.*, 2008). Dentre essas encontra-se *Aspidosperma pyrifolium*, conhecida popularmente como pereiro, pau-pereiro, pereiro-vermelho, pau-de-coaru (CORREA, 1978), é uma espécie considerada endêmica, originária da Caatinga (SILVA *et al.*, 2006).

De acordo com Maia (2004), *A. pyrifolium* é uma árvore de porte regular, podendo atingir em média entre 7 e 8m de altura. As folhas são ovais e suas flores de cor clara, o fruto possui uma coloração castanho-claro, com pequenas verrugas de cor cinza, que comporta cerca de 5 sementes, sendo a forma de dispersão feita através do vento. A madeira possui uma cor clara, moderadamente pesada e é considerada bastante resistente.

Com relação ao efeito medicinal *A. pyrifolium*, é utilizada pela população no combate a inflamação do trato urinário, dermatite, dor de estômago, cólicas, coceira, problemas cardíacos, diarreia, tendo ainda efeitos sedativos (CRAVEIRO *et al.*, 1983; SANTOS *et al.*, 2013).

Contudo, essa espécie possui uma importância tóxica relevante entre as demais vegetações do bioma, segundo Silva *et al.* (2006). Em um estudo realizado por Medeiros *et al.* (2004), as folhas in natura de *A. pyrifolium* causou aborto ou nascimento prematuro seguido de morte em caprinos, quando ingerida nos primeiros 34 dias de gestação. De Souza Lima & Soto-Blanco (2010), pesquisaram o efeito abortivo do extrato aquoso etanólico das folhas de *A. pyrifolium* em ratas Wistar prenhes, concluindo que a administração do mesmo no 15º gestacional ou até o 17º apresentaram redução do peso fetal e forte evidência de toxicidade materna. Lima & Soto Blanco (2009), demonstraram que o extrato etanólico das folhas de *A. pyrifolium*, ocasionou efeito hemolítico e também efeito tóxico em larvas de *Artemia salina*.

No que diz respeito ao controle de insetos Trindade *et al.* (2008) relataram resultados significativos com o uso dos extratos etanólicos da casca do caule, do fruto e da raiz de *A. pyrifolium* sobre larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758), e ainda Torres (2006)

demonstrou o potencial larvicida do extrato aquoso da casca do caule de *A. pyrifolium* sobre esse mesmo inseto. TRINDADE *et al.* (2013) relataram eficiente efeito ovicida sobre *Diatraea saccharalis* tratadas com extrato etanólico da casca do caule de *A. pyrifolium*, e ação repelente sobre o parasitoide *Trichogramma galloi* tratadas com este mesmo extrato. Segundo Melo *et al.* (2014), os pós finos dos ramos oriundos dessa espécie apresentaram potencial bioativo na biologia de *Callosobruchus maculatus*, reduzindo significativamente a quantidade de adultos emergidos e ainda a proporção de fêmeas de *C. maculatus*.

Estudos realizados por Araújo Jr. *et al.* (2007) com o extrato aquoso da casca do caule de *A. pyrifolium* revelaram a presença dos alcaloides indólicos 15-demetoxipirifolina, aspidofractinina e N-formilaspidofractinina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos descritos neste trabalho foram realizados no Laboratório de Pesquisas de Inseticidas Naturais – LAPIN, em colaboração do Laboratório de Produtos Naturais – LAPRON, que juntos formam o Núcleo de Pesquisas em Química Aplicada – NUPESQ, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga – BA. A técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi realizada na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

O interesse por avaliar o potencial inseticida de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Apocynaceae), objeto desse estudo, ocorreu a partir de relatos feitos pelo mateiro Sr. Antônio Correia Freire, durante um levantamento etnobotânico realizado por Silva et al. (2012) na região de Contendas do Sincorá-BA.

3.1 Planta

3.1.1 Coleta e identificação do material botânico

A parte aérea (folhas e fragmentos dos caules nos quais os pecíolos das folhas estão ligados) de *Aspidosperma pyrifolium* (**Figura 5**), foram coletadas nos meses de janeiro e abril de 2014 na Floresta Nacional Contendas do Sincorá (S15°15.052' W040°15.147'), localizada no município de Contendas do Sincorá-BA (**Figura 6**), uma região caracterizada por possuir um clima semiárido quente (tipo BSwH' pela classificação de Koppen), com estação chuvosa nos períodos de novembro a janeiro, sendo a sua precipitação entre 500 a 1.000 mm anuais. A temperatura varia de 21 a 28°C, com umidade relativa de 60 a 70%. O solo se enquadra na associação de Podzólicos Vermelho e Litólicos Eutróficos (LIMA & LIMA, 1998).

A exsicata do material botânico foi encaminhada ao Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) campus de Jequié, e em seguida identificada e registrada no acervo pela taxonomista Profa. Dra. Guadalupe Edilma Licon de Macedo, com o registro HUESB 6319.

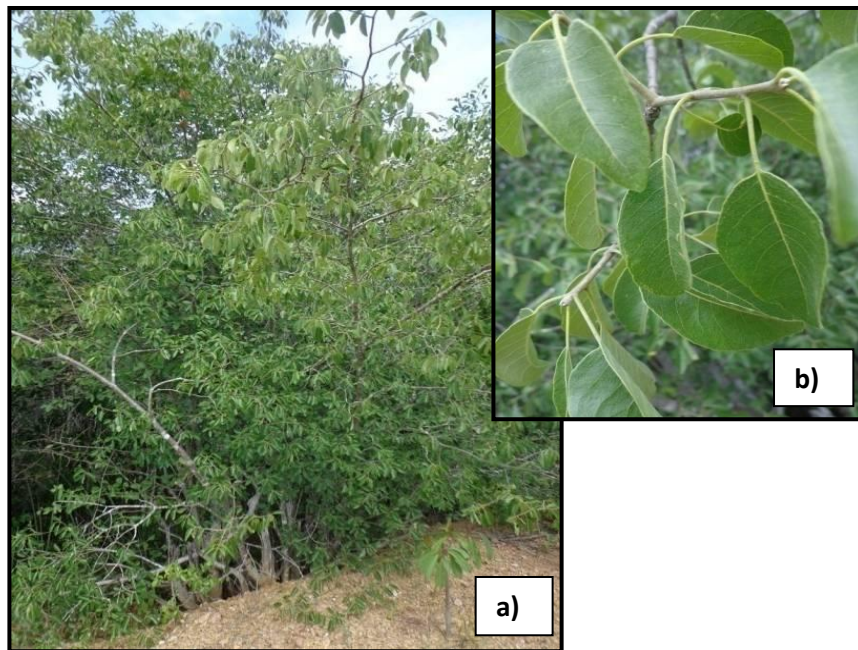


Figura 5 - Imagens de *Aspidosperma pyriformium*: (a) Aspecto geral da planta; (b) Parte aérea.

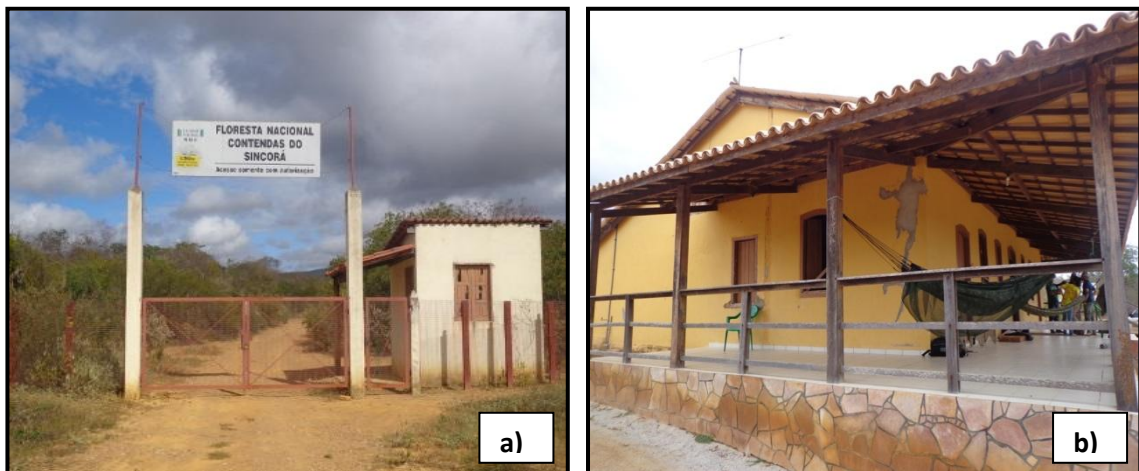


Figura 6 - Floresta Nacional Contendas do Sincorá (a) Imagem da entrada; (b) Imagem da Sede.

3.1.2 Processamento do material vegetal

As partes aéreas (folhas e fragmentos dos caules nos quais os pecíolos das folhas estão ligados) coletadas foram levadas para o laboratório, onde inicialmente separou-se 800 g para a obtenção dos extratos aquosos a partir do material fresco (**Figura 7a**). O restante do material

coletado foi pesado (2.109,9 g) e, posteriormente, encaminhado para uma estufa de circulação de ar regulada a 50 °C, durante 48 horas (**Figura 7b**). Após secagem, o material vegetal foi novamente pesado, obtendo-se o valor de 1.814,1 g, sendo que deste valor 800 g foram reservados para a obtenção dos extratos aquosos feitos com o material seco e o restante (1.014,1 g) foi utilizado para a extração com o etanol. Anterior ao processo de extração o material vegetal fresco e seco, foram fragmentados.



Figura 7. *Aspidosperma pyriformis*: (a) Parte aérea fresca; (b) Parte aérea seca.

3.1.3 Obtenção dos extratos

3.1.3.1 Aquosos

Os extratos aquosos oriundos da parte aérea fresca e seca foram obtidos pelos processos de decocção, infusão e maceração (**Figura 8**).

Na decocção, adicionou-se em 1 L de água deionizada, à temperatura ambiente, 200 g da parte aérea de *A. pyriformis*, e em seguida submeteu-se à fervura por 15 minutos, após o qual o material foi coado e reservado até atingir a temperatura ambiente (25±2°C).

Para o processo de infusão foi aquecido 1 L de água deionizada, que após entrar em ebulição foi colocada em um funil de separação de 2 L contendo 200 g da parte da planta a ser avaliada. Após 15 min de contato o material foi filtrado e reservado até atingir a temperatura ambiente (25±2°C).

Na maceração foram usados 200 g do vegetal, o qual foi colocado em um funil de separação de 2 L, em seguida acrescentou-se 1 L de água deionizada em temperatura

ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$), ficando em contato com a mesma por um período de 24 horas, sendo posteriormente filtrado.

Os extratos aquosos obtidos pelos métodos de infusão e decocção foram acondicionados em geladeira por um período de 24 horas, e logo após submetido aos ensaios larvicidas. O macerado foi utilizado logo após ter sido filtrado, conforme fluxograma apresentado na **figura 9**.

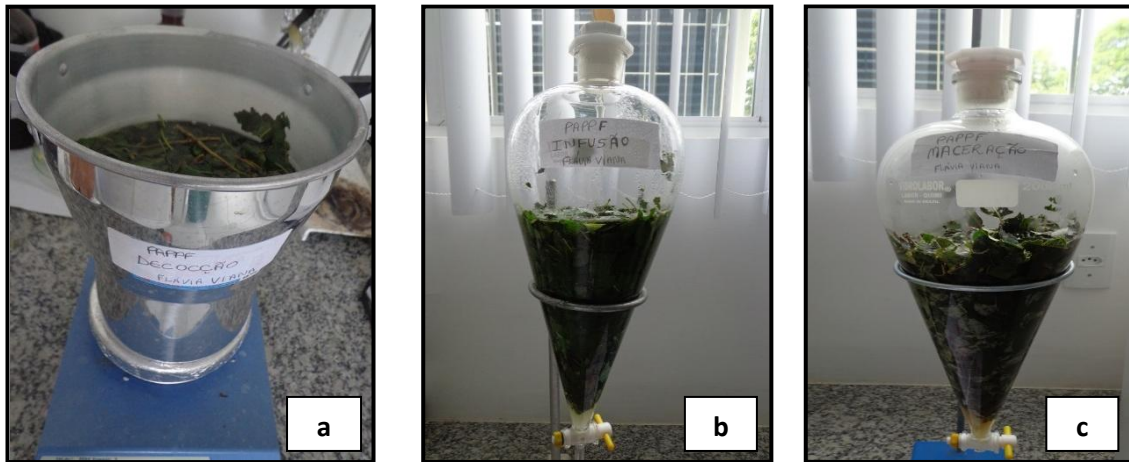


Figura 8 - Imagens dos processos realizados para obtenção dos extratos aquosos com a parte aérea fresca de *A. pyrifolium*, o mesmo realizado com a parte aérea seca: (a) Decocção; (b) Infusão; (c) Maceração.

3.1.3.2 Etanólico

Após secagem o material vegetal foi fragmentado e transferido para um funil de separação de 2 L, no qual permaneceu até a completa exaustão da planta com etanol. O extrato etanólico foi obtido através do processo de percolação, utilizando-se etanol a 95%, concentrado em evaporador rotatório e, em seguida, colocado em recipiente aberto de vidro (5cm X 6cm) até a completa evaporação do solvente, obtendo-se então 213,2 g de extrato bruto etanólico (**Figura 10**), o qual foi, posteriormente, submetido aos ensaios larvicidas, e fracionado, conforme fluxograma apresentado na **Figura 11**.

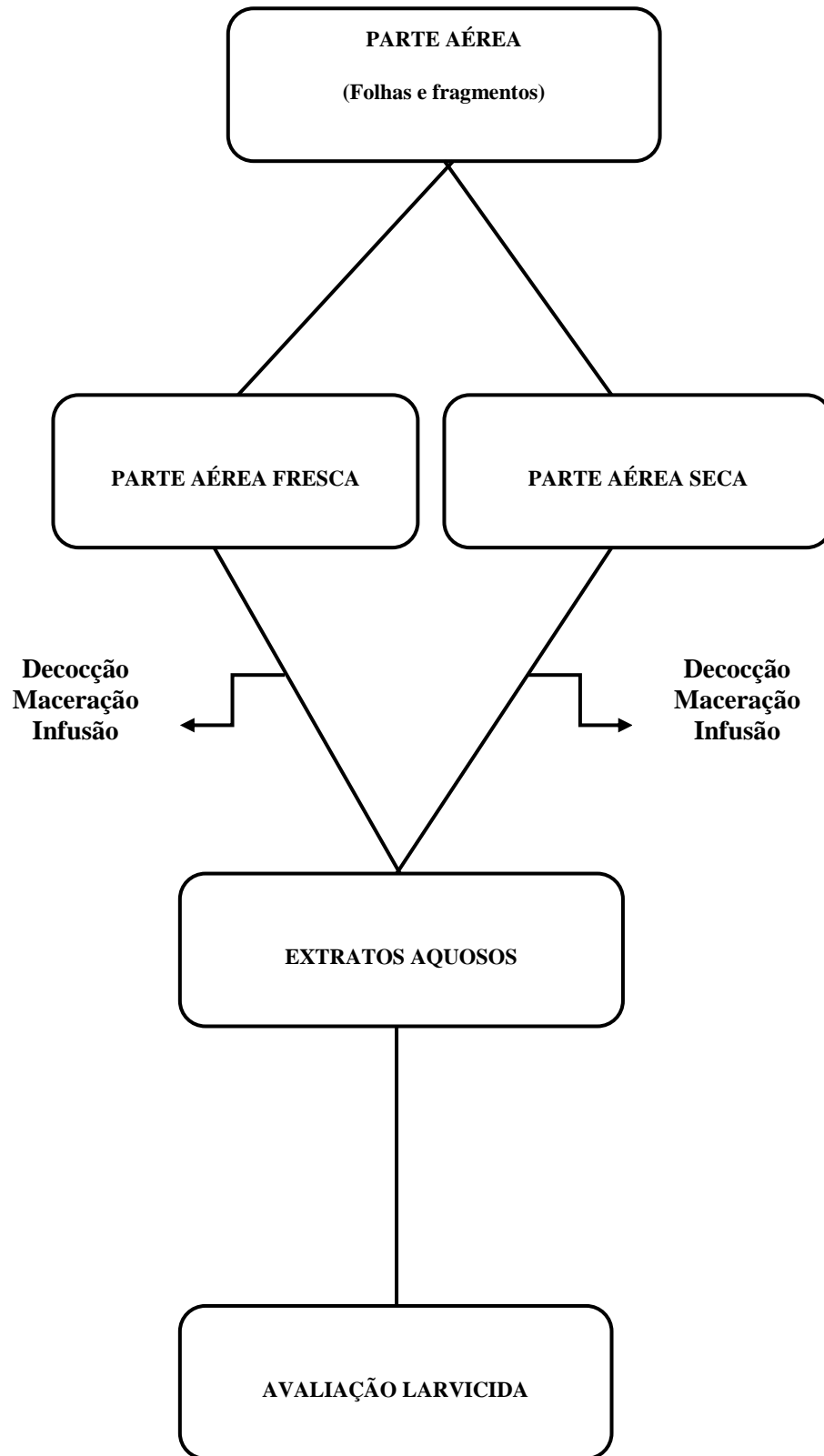


Figura 9- Fluxograma que apresenta a sequência metodológica adotada para a obtenção dos extratos aquosos e posterior realização da avaliação larvicida.

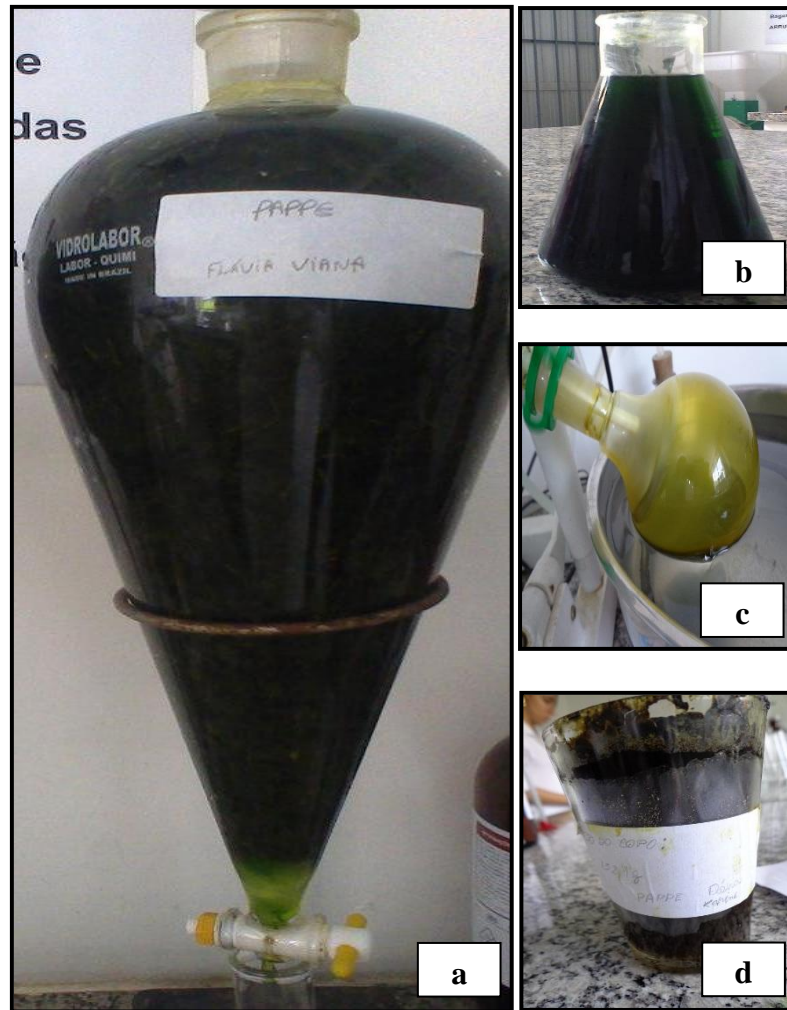


Figura 10 - Imagens da metodologia adotada para obtenção do extrato etanólico: (a) Parte aérea seca de *Aspidosperma pyrifolium* submersa em etanol; (b) Extrato etanólico filtrado; (c) Concentração do extrato etanólico em evaporador rotativo; (d) Extrato etanólico alocado em recipiente de vidro para evaporação do solvente.

3.1.3 Fracionamento do extrato etanólico

Para a realização do fracionamento do extrato etanólico, o mesmo foi submetido ao processo de partição, onde inicialmente 100 g do extrato foi solubilizado em 1 L de uma solução hidroalcoólica (7:3), e, em seguida, a suspensão foi transferida para um funil de separação de 2 L. Logo após deu-se início ao fracionamento através da técnica líquido-líquido, com o uso dos respectivos solventes por ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano e acetato de etila. Através desse procedimento foram obtidas quatro frações:

hexânica (15,06 g), diclorometânica (58,1 g), acetato de etila (2,68 g) e hidroalcoólica (33,10 g) (**Figura 12**), as quais foram, posteriormente, submetidas aos ensaios biológicos, conforme fluxograma apresentado na **Figura 11**.

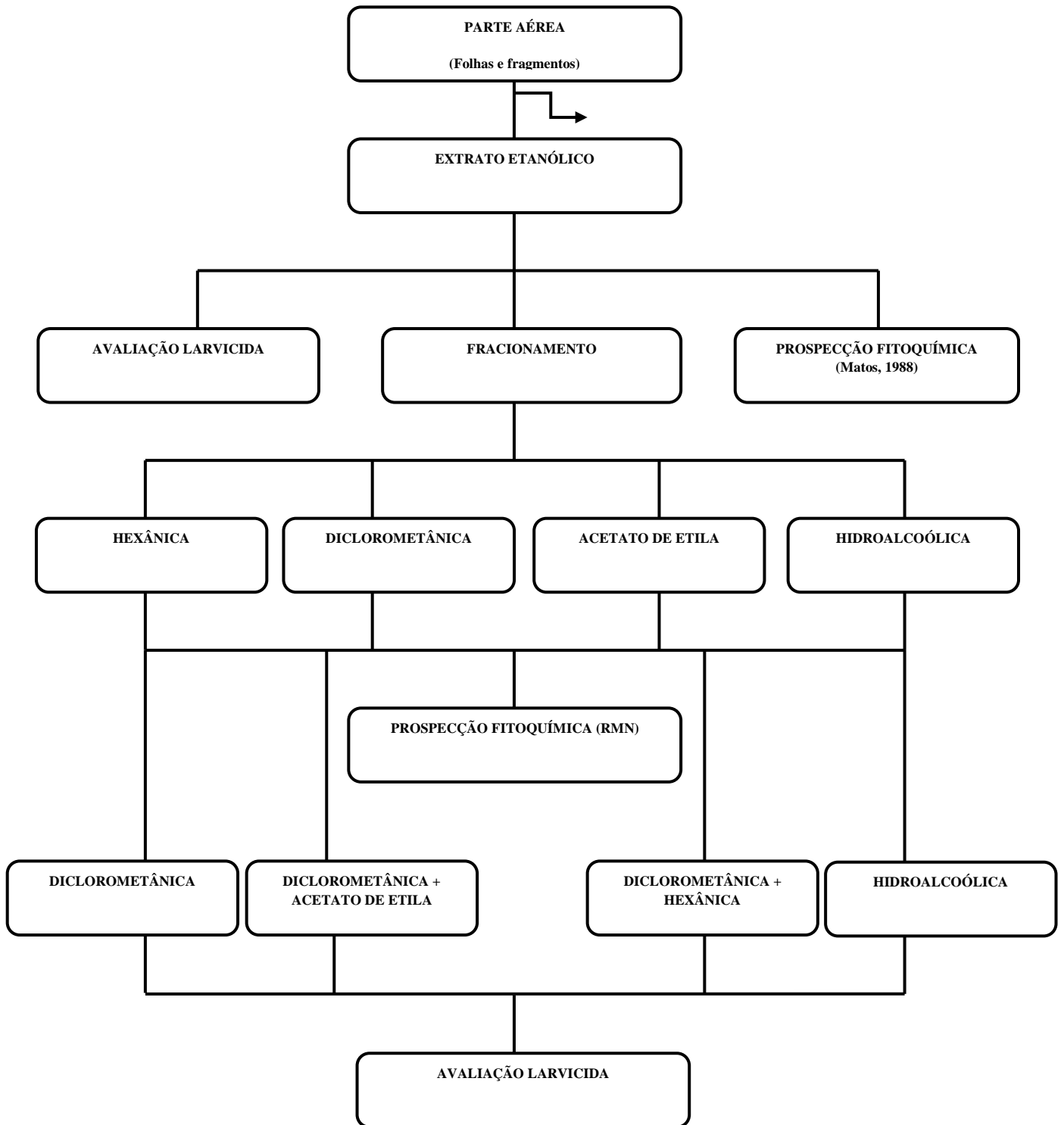


Figura 11- Fluxograma que apresenta a sequência metodológica adotada desde a obtenção do extrato etanólico à avaliação larvicida, bem como à prospecção fitoquímica.

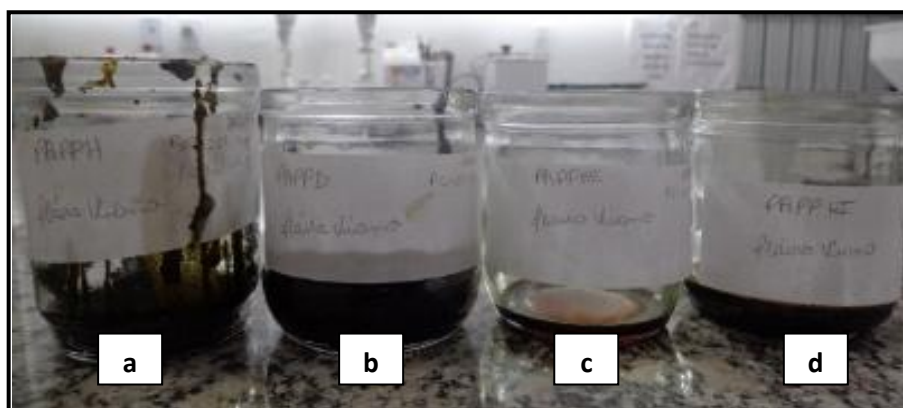


Figura 12 - Imagem das quatro frações obtidas a partir do fracionamento do extrato etanólico: (a) Fração hexânica; (b) Fração diclorometânica; (c) Fração acetato de etila; (d) Fração hidroalcolólica.

3.1.5 Prospecção fitoquímica

Concomitante aos ensaios biológicos foi realizada a prospecção fitoquímica do extrato etanólico, de acordo com metodologia proposta por Matos (1988), que consistiu na preparação de dois extratos, um hidrofílico (etanol/água) na proporção 7:3 e outro lipofílico (clorofórmio). Posteriormente, esses extratos foram submetidos a uma marcha analítica prospectiva com o objetivo de detectar os seguintes constituintes químicos: ácidos fixos fortes, alcaloide, antocianidina, antocianina, base quaternária, catequina, cumarina, esteroide livre, fenois, flavonois, flavanonois, flavanona, flavona, heterosídeo cianogênico, leucoantocianida, quinona, resina, saponina, tanino condensado, triterpenoide e xantona. As frações hexânica, diclorometânica, acetato de etila e hidroalcolólica foram submetidas a RMN em espectrômetro modelo Bucker (^1H :500 MHz).

3.2 Ensaios biológicos – Atividade larvicida

O estabelecimento da colônia do *Ae. aegypti*, originou-se a partir de ovos da linhagem *Rockefeller*, cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE), da Fundação Oswaldo Cruz, do Rio de Janeiro.

A avaliação da atividade larvicida dos extratos foi conduzida em sala climatizada, com temperatura e umidade média monitorada, através de um termo higrômetro digital (max/min Incoterm 7666), três vezes ao dia (8, 13 e 19 horas).

Foram utilizados em todos os ensaios larvicidas seis repetições por tratamento, cada repetição com 30 larvas, totalizando 180 larvas por tratamento. As observações da mortalidade das larvas foram realizadas $\frac{1}{2}$, 1, 2, 4, 8, 16 e 24 horas, após a montagem do experimento. As larvas foram consideradas mortas quando não se mantinham mais na superfície dos extratos e apresentavam ausência de movimentos, mesmo quando estimuladas mecanicamente através de um pincel metálico.

3.2.1 Avaliação dos extratos aquosos

Os experimentos realizados com os extratos aquosos, obtidos da parte aérea fresca e seca, foram conduzidos em sala climatizada com registro de temperatura e umidade média de 27,5°C e 51,4%, respectivamente.

Para a avaliação da atividade larvicida, inicialmente realizou-se um pré-teste que consistiu na utilização de 30 ml de cada extrato a 100% (**Figura 13**). A análise dos resultados da mortalidade larval obtidos a partir deste pré-teste foi determinante para o estudo do potencial larvicida desses extratos em diferentes concentrações (100%, 80%, 60%, 40% e 20%), com vistas à obtenção da concentração letal 50 (**Figura 14**). Para a obtenção das diferentes concentrações (v/v) utilizou-se água deionizada. O grupo controle foi composto por água deionizada.

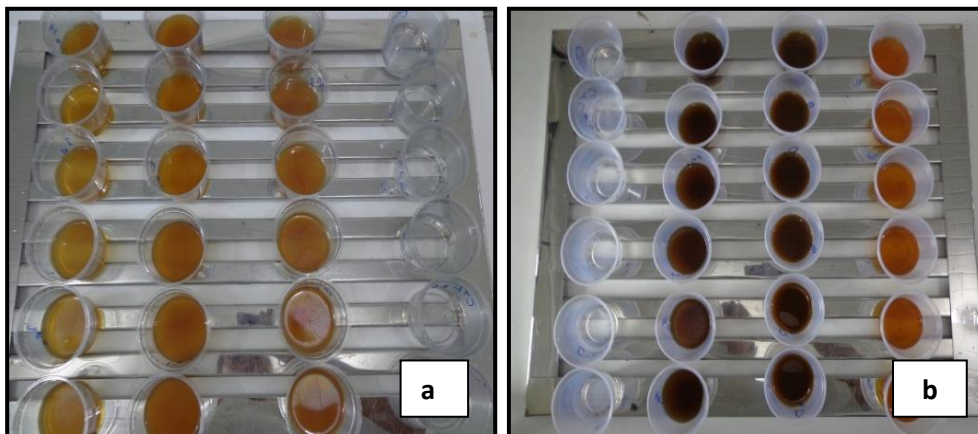


Figura 13 - Procedimento adotado para a avaliação larvicida dos extratos aquosos: (a) Material vegetal fresco; (b) Material vegetal seco.

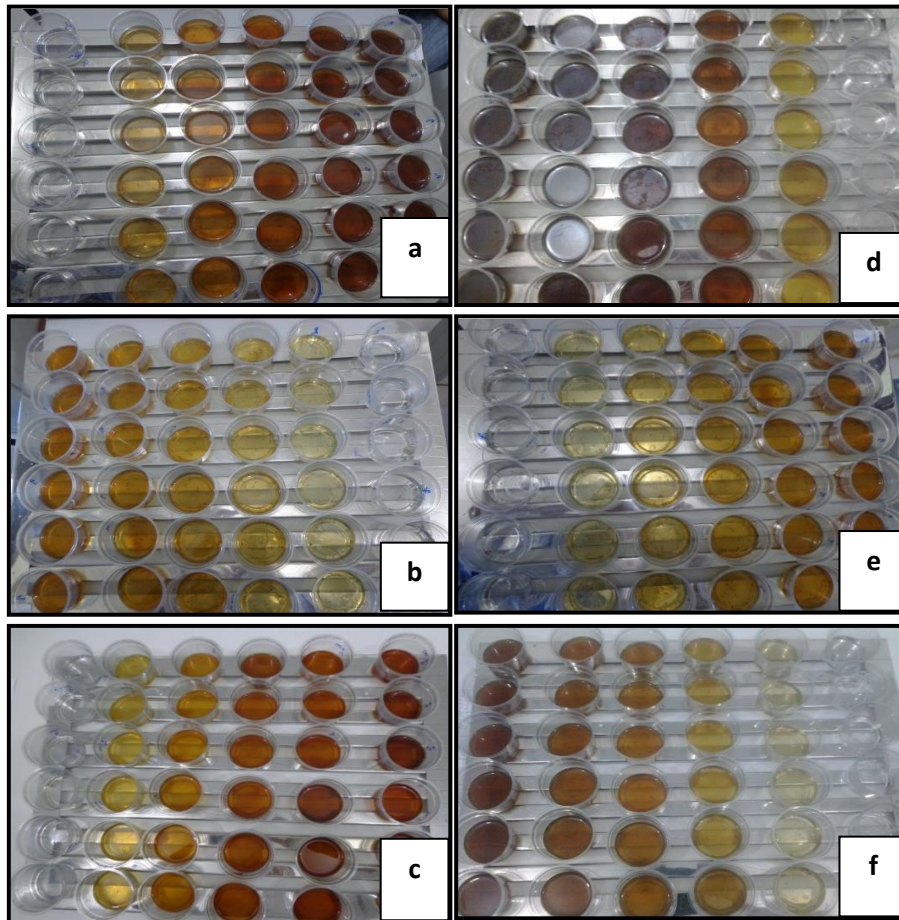


Figura 14 - Avaliação larvicida dos extratos aquosos obtidos pelos métodos de decocção, infusão e maceração em diferentes concentrações: (a) Infusão com o material vegetal fresco; (b) Maceração com o material vegetal fresco; (c) Decocção com o material vegetal fresco; (d) Infusão com o material vegetal seco; (e) Maceração com o material vegetal seco; (f) Decocção com o material vegetal seco.

3.2.2 Avaliação do extrato etanólico e das frações

Inicialmente foi realizado um teste preliminar com o objetivo de avaliar o potencial larvicida do extrato etanólico sobre as larvas de *Ae. aegypti*, bem como a partir daí apontar as concentrações que seriam utilizadas (**Figura 15**).

Para a solubilização do extrato etanólico foi utilizada água deionizada e etanol absoluto, na proporção de 9:1. Foram avaliadas três concentrações: 10 mg mL^{-1} , 5 mg mL^{-1} e $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Em cada concentração, bem como para o grupo controle, foram realizadas duas repetições por tratamento, contendo 10 larvas cada uma, ficando estas em contato com os mesmos por 24 horas.

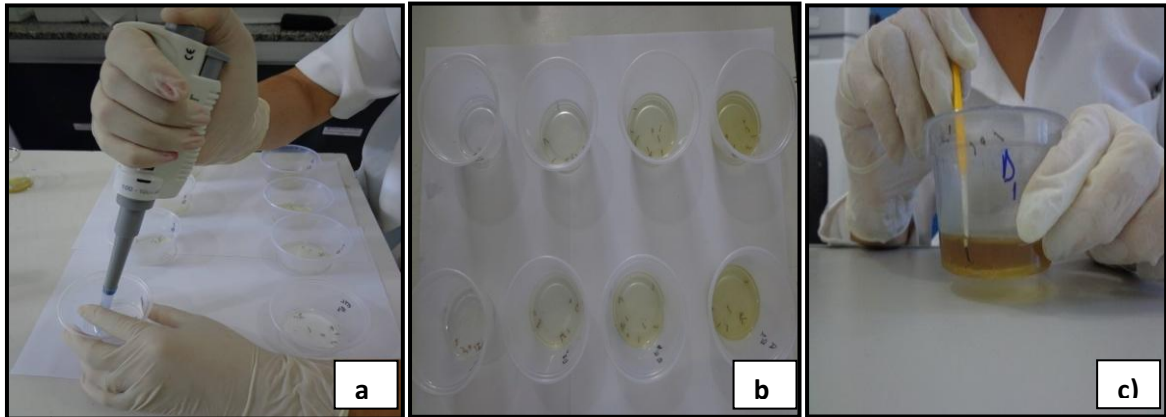


Figura 15 - Avaliação preliminar do extrato bruto etanólico: (a) Aplicação das concentrações; (b) Larvas expostas às diferentes concentrações; (c) Observação da mortalidade larval.

Para a avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico, determinada a partir do pré-teste, foram utilizadas cinco concentrações (20 mg mL^{-1} , 15 mg mL^{-1} , 10 mg mL^{-1} , 5 mg mL^{-1} e $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$), e um grupo controle que consistiu de água deionizada e etanol a 95%, na proporção de 7:3, a mesma solução utilizada para solubilizar o extrato etanólico (**Figura 16**).

Para avaliação da atividade larvicida da fração diclorometânica, foram utilizadas as concentrações de 12 mg mL^{-1} , 9 mg mL^{-1} , 7 mg mL^{-1} , 4 mg mL^{-1} e 2 mg mL^{-1} , e um grupo controle que consistiu de água deionizada e metanol absoluto na proporção de 7:3, a mesma solução utilizada para solubilizar a fração diclorometânica (**Figura 17**).

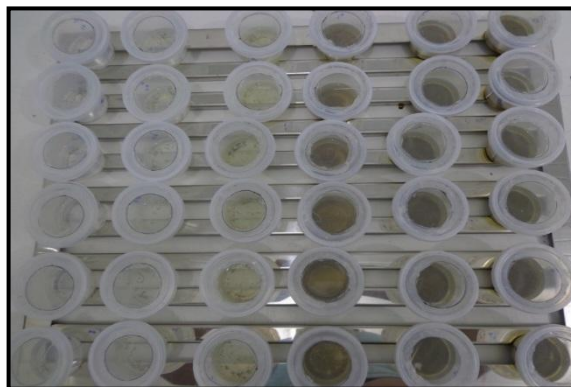


Figura 16 - Ilustração da avaliação larvicida do extrato etanólico.

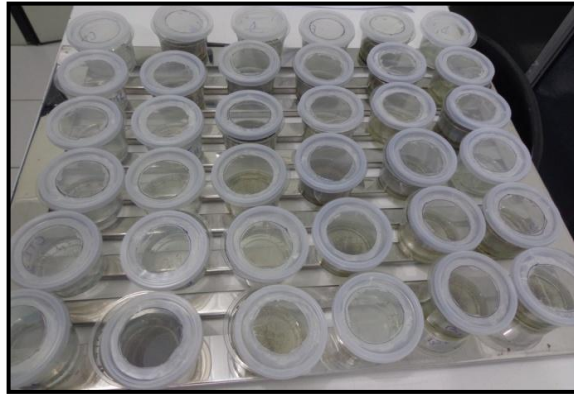


Figura 17 – Ilustração da avaliação larvívica da fração diclorometânica.

Para avaliação da atividade larvívica da fração hidroalcolóica, foram também utilizadas as concentrações de 12 mg mL^{-1} , 9 mg mL^{-1} , 7 mg mL^{-1} , 4 mg mL^{-1} e 2 mg mL^{-1} , e um grupo controle que consistiu de água deionizada e dimetilsulfóxido na proporção de 8:2, a mesma solução utilizada para dissolver a fração hidroalcolóica (**Figura 18**).

Com as frações hexânica e de acetato de etila foi avaliado o potencial dessas frações em aumentar ou reduzir o efeito tóxico da fração diclorometânica sobre as larvas do *Ae. aegypti*. Dessa forma utilizou-se a seguinte composição: diclorometânica + acetato de etila (8 e 1g, respectivamente) e diclorometânica + hexânica (8 e 1g, respectivamente).

Para a sua solubilização do composto diclorometânico + acetato de etila foi utilizado metanol, água deionizada e clorofórmio na proporção de 5:4:1, essa mesma solução foi utilizada para o grupo controle. As concentrações avaliadas desse composto foram 10 mg mL^{-1} , $7,5 \text{ mg mL}^{-1}$, $5,8 \text{ mg mL}^{-1}$, $3,3 \text{ mg mL}^{-1}$ e $1,7 \text{ mg mL}^{-1}$ (**Figura 19**).

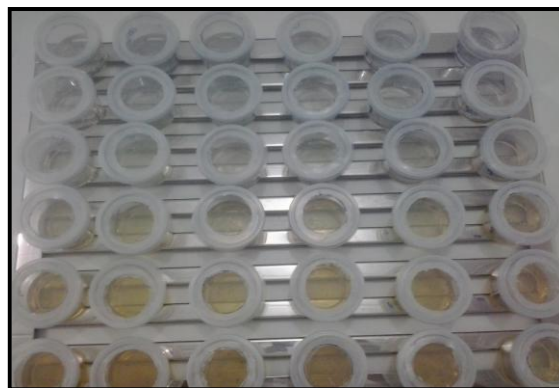


Figura 18 – Ilustração da avaliação larvívica da fração hidroalcolóica.

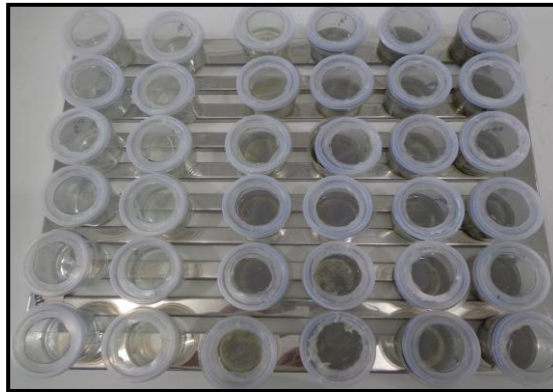


Figura 19 – Ilustração da avaliação larvicida da fração diclorometânica + acetato de etila.

No que diz respeito ao composto diclorometânica + hexânica Para a sua solubilização do composto diclorometânico + acetato de etila foi utilizado água deionizada, metanol e etanol na proporção de 5:4:1, essa mesma solução foi utilizada para o grupo controle. As concentrações avaliadas desse composto foram 10 mg mL^{-1} , $7,5 \text{ mg mL}^{-1}$, $5,8 \text{ mg mL}^{-1}$, $3,3 \text{ mg mL}^{-1}$ e $1,7 \text{ mg mL}^{-1}$ (**Figura 20**).

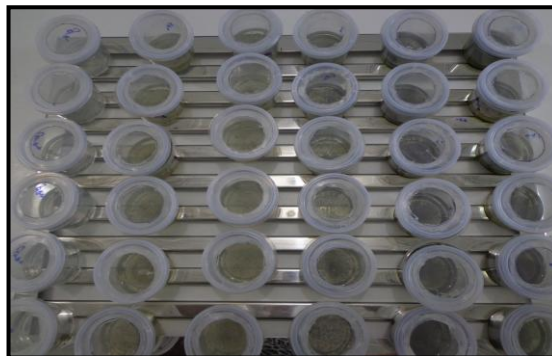


Figura 20 – Ilustração da avaliação larvicida da fração diclorometânica + hexânica.

3.3 Análise estatística

Os dados relativos à mortalidade larval em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações dos extratos foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade para a comparação das médias. Para o cálculo das concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) foi utilizado o programa computacional *Probit for Logit Analysis* (POLO-PC).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos

A avaliação da atividade larvicida realizada com os extratos aquosos obtidos a partir do material vegetal fresco, revelou que com ½ hora de exposição aos extratos obtidos pelo método de decocção e maceração houve uma mortalidade larval de 63,89% e 70%, respectivamente, diferindo significativamente do extrato obtido pelo método de infusão, o qual ocasionou 8,89% de mortalidade ($p < 0,01$). Essa maior toxicidade dos extratos obtidos pelos métodos de decocção e maceração, sobre as larvas do *Ae. Aegypti*, quando comparada com a infusão, também foi observada nos períodos de exposição de 1, 2, 4 e 8 horas (**Tabela 1**). Com 16 horas de exposição das larvas aos diferentes extratos aquosos, o extrato obtido pelo método de maceração ocasionou 100% de mortalidade larval, contudo não diferiu significativamente da decocção (98,89%), e este não diferiu do extrato obtido pelo método de infusão (95,56%). Com 24 horas de exposição das larvas todos os extratos ocasionaram 100% de mortalidade. Não houve mortalidade no grupo controle (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição aos diferentes extratos aquosos obtidos da parte aérea fresca de *Aspidosperma pyriformium*

EXTRATOS	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
DECOCÇÃO	63,89 ^a	76,11 ^a	81,67 ^a	88,33 ^a	94,44 ^a	98,89 ^{ab}	100,00 ^a
INFUSÃO	8,89 ^b	28,89 ^b	33,89 ^b	43,33 ^b	64,45 ^b	95,56 ^b	100,00 ^a
MACERAÇÃO	70,00 ^a	78,33 ^a	82,22 ^a	92,78 ^a	98,33 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
CONTROLE	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^b

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação aos extratos aquosos obtidos a partir do material vegetal seco, somente foi observado mortalidade larval em torno de 50% após 1 hora de exposição das larvas ao extrato obtido pelo método de decocção. Nos extratos obtidos por maceração e infusão esse

percentual de mortalidade somente foi observado a partir de 4 horas de exposição (**Tabela 2**). Com 2 e 4 horas de exposição das larvas a decocção foi significativamente mais tóxica que os demais métodos de extração. Com 8 horas de exposição das larvas não houve diferença significativa entre os extratos obtidos pelos métodos de decocção (99,45%) e maceração (94,44%), os quais foram significativamente mais efetivos quando comparados ao obtido por infusão (87,89%) ($p < 0,01$) e ($p < 0,05$), respectivamente. Com 16 horas de exposição os extratos obtidos por decocção e maceração ocasionaram 100% de mortalidade larval. Transcorridos 24 horas de exposição das larvas, o extrato obtido por infusão continuou sendo significativamente menos efetivo (97,78%), comparado à decocção e a maceração ($p < 0,05$), conforme demonstrado na (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição aos diferentes extratos aquosos obtidos da parte aérea seca de *Aspidosperma pyrifolium*

EXTRATOS	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
DECOCÇÃO	21,67 ^a	52,22 ^a	85,55 ^a	94,45 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
INFUSÃO	24,45 ^a	35,56 ^{ab}	42,72 ^b	70,56 ^b	87,22 ^b	93,89 ^b	97,78 ^b
MACERAÇÃO	13,89 ^{ab}	24,44 ^b	32,78 ^b	69,44 ^b	94,44 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
CONTROLE	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

No que diz respeito à avaliação da atividade larvicida de diferentes concentrações do extrato aquoso obtido a partir do material vegetal fresco, pelo método de decocção, pode-se notar um percentual de mortalidade acima de 50% logo nas primeiras ½ hora de exposição das larvas ao extrato, contudo as concentrações de 80% e 40% foram significativamente mais efetivas, quando comparadas com as concentrações de 100 e 20%. A partir de 4 horas de exposição das larvas as concentrações de 100, 80 e 60% foram significativamente mais tóxicas (99,45%, 98,89% e 91,67%, respectivamente) que as concentrações de 40 e 20%, que ocasionaram mortalidade larval de 77,78% ($p < 0,01$ para as concentrações de 100 e 80% e $p < 0,05$ para a de 60%) e 32,78% ($p < 0,01$), respectivamente. Não houve diferença

significativa entre as concentrações de 100, 80, 60 e 40%, a partir de 8 horas de exposição, as quais ocasionaram uma mortalidade larval de 100%, com 24 horas de exposição. Estas concentrações foram significativamente mais efetivas que a concentração de 20% ($p < 0,01$). Não houve mortalidade larval no grupo controle (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de decocção

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	32,22 ^{bc}	52,22 ^a	89,45 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
80	51,67 ^a	70,56 ^a	91,11 ^a	98,89 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
60	35,56 ^b	66,67 ^a	80,56 ^{ab}	91,67 ^a	97,78 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a
40	40,55 ^{ab}	58,89 ^a	68,89 ^b	77,78 ^b	92,22 ^a	98,33 ^a	100,00 ^a
20	18,33 ^c	27,78 ^b	31,67 ^c	32,78 ^c	40,00 ^b	79,46 ^b	83,89 ^b
CONTROLE	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O extrato aquoso obtido pelo método de decocção com o material vegetal seco, assim como o obtido com o material vegetal fresco, também ocasionou um percentual de mortalidade de 50%, já com ½ hora de exposição das larvas ao extrato, essa mortalidade foi crescente na medida em que aumentava o tempo de exposição das larvas. A partir de 16 horas, as concentrações de 100, 80, 60 e 40% foram significativamente mais tóxicas quando comparadas com a concentração de 20% ($p < 0,05$), conforme apresentado na **Tabela 4**.

Em relação ao extrato aquoso obtido pelo método de maceração com o material vegetal fresco, somente foi observado um percentual de mortalidade acima de 50% após 2 horas de exposição das larvas ao extrato. A partir de 8 horas, as concentrações de 100, 80, 60 e 40% foram significativamente mais efetivas ($p < 0,01$), em relação à concentração de 20% e ao grupo controle. Com 24 horas de exposição observou-se 100% de mortalidade larval nas concentrações de 100 e 40%, embora estas não tenham diferido significativamente das concentrações de 80 e 60% (99,45% e 98,33%, respectivamente) (**Tabela 5**).

Tabela 4 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de decocção

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	50,00 ^a	80,56 ^a	91,67 ^a	95,02 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
80	37,23 ^{ab}	74,44 ^{ab}	82,78 ^{ab}	90,56 ^a	97,78 ^{ab}	100,00 ^a	100,00 ^a
60	33,89 ^b	62,22 ^b	75,56 ^b	83,89 ^a	93,33 ^{ab}	99,45 ^a	99,45 ^a
40	17,22 ^c	36,67 ^c	51,11 ^c	63,33 ^b	81,11 ^b	96,67 ^a	98,34 ^a
20	1,11 ^d	7,78 ^d	20,56 ^d	28,33 ^c	33,89 ^c	53,33 ^b	70,56 ^b
CONTROLE	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^e	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de maceração

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	32,78 ^a	45,56 ^a	57,78 ^a	77,78 ^a	96,67 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a
80	30,00 ^a	43,89 ^{ab}	47,23 ^{ab}	79,45 ^a	93,89 ^a	98,34 ^a	99,45 ^a
60	21,67 ^{ab}	28,89 ^{ab}	43,89 ^{ab}	62,22 ^{ab}	87,22 ^a	97,78 ^a	98,33 ^a
40	23,33 ^{ab}	35,56 ^{ab}	46,11 ^{ab}	67,22 ^a	87,22 ^a	98,89 ^a	100,00 ^a
20	11,11 ^{bc}	25,00 ^b	36,67 ^b	46,67 ^b	72,22 ^b	85,56 ^b	85,56 ^b
CONTROLE	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Similar ao ocorrido com o extrato aquoso obtido pelo método de maceração com a parte aérea fresca, o macerado obtido com a parte aérea seca ocasionou um percentual de mortalidade larval acima de 50%, também com 2 horas de exposição das larvas ao extrato. A partir de 4 horas de exposição às concentrações de 100, 80, 60 e 40% foram significativamente mais tóxicas que a concentração de 20% e com 24 horas ocasionaram uma mortalidade larval de 100, 100, 100 e 99,45%, respectivamente, e a concentração de 20% ocasionou 74,44% de mortalidade ($p < 0,01$). Não houve mortalidade no grupo controle (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de maceração

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	15,00 ^a	25,55 ^{ab}	57,78 ^{ab}	97,22 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
80	17,78 ^a	37,78 ^a	63,89 ^a	87,78 ^a	94,44 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
60	18,33 ^a	35,00 ^{ab}	64,44 ^a	90,00 ^a	95,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
40	13,33 ^a	30,56 ^{ab}	61,11 ^a	87,22 ^a	97,22 ^a	99,45 ^a	99,45 ^a
20	13,34 ^a	22,22 ^b	46,67 ^b	52,78 ^b	55,56 ^b	65,56 ^b	74,44 ^b
CONTROLE	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A mortalidade larval em torno de 50% também foi observada no extrato aquoso obtido pelo método de infusão com o material vegetal fresco com 2 horas de exposição das larvas (**Tabela 7**), sendo que o extrato obtido com a parte aérea seca ocasionou esse percentual com ½ horas de exposição (**Tabela 8**).

A partir de 4 horas de exposição das larvas, as concentrações de 100, 80 e 60%, do infuso feito com a parte aérea fresca, foram significativamente mais tóxicas, quando comparadas com as concentrações de 40 e 20%. Com 24 horas esse infuso ocasionou 100%

de mortalidade larval, nas concentrações de 100 e 80% e na de 60% ocasionou 98,33% de mortalidade. Estas concentrações não diferiram significativamente entre si, contudo, foram significativamente mais efetivas que as de 40 e 20%, cujo percentual de mortalidade foi de 71,11 e 26,11% ($p < 0,01$) (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea fresca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de infusão

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	22,78 ^a	42,22 ^a	56,67 ^a	70,57 ^a	91,11 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a
80	20,00 ^a	39,44 ^a	50,00 ^{ab}	68,34 ^a	88,89 ^a	95,00 ^a	100,00 ^a
60	20,00 ^a	30,00 ^{ab}	40,00 ^{bc}	57,22 ^a	78,89 ^a	90,56 ^a	98,33 ^a
40	8,33 ^b	19,45 ^{bc}	26,11 ^c	30,56 ^b	49,45 ^b	60,56 ^b	71,11 ^b
20	0,56 ^b	6,67 ^{cd}	7,22 ^d	9,45 ^c	13,33 ^c	22,78 ^c	26,11 ^c
CONTROLE	0,00 ^b	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

No que se refere ao infuso feito com a parte aérea seca, observou-se, já a partir de 16 horas de exposição 100% de mortalidade larval nas concentrações de 100 e 80%, não diferindo significativamente das concentrações de 60 e 40% (98,89% e 90,00%), contudo, estas quatro concentrações foram significativamente mais tóxicas que a de 20% ($p < 0,01$). Diferença essa que se manteve até 24 horas de exposição das larvas (**Tabela 8**).

As análises das concentrações letais 50, dos extratos aquosos obtidos das partes aéreas fresca de *Aspidosperma pyrifolium*, demonstraram que para obter 50% de mortalidade larval, com 8 horas de exposição das larvas aos diferentes extratos, é necessário uma concentração letal de 22,238%, 8,455% e 39,279%, para os extratos obtidos por decocção, maceração e infusão, respectivamente. Para os extratos obtidos a partir da parte aérea seca, através dos métodos de decocção, maceração e infusão, é necessário uma concentração letal de 25,058%, 16,417% e 22,226%, respectivamente (**Tabela 9**). Para se obter este mesmo percentual de mortalidade com 16 horas de exposição das larvas aos diferentes extratos da parte aérea

fresca, é necessário uma concentração letal de 12,520%, 5,603% e 31,536%, pelos métodos de decocção, maceração e infusão, respectivamente. No caso dos extratos provenientes da parte aérea seca obtidos pelos métodos de decocção, maceração e infusão, necessita-se de uma concentração letal de 19,279%, 17,579% e 16,910%, respectivamente (**Tabela 9**).

Pode-se inferir a partir da análise dos intervalos de confiança dessas concentrações letais que o extrato obtido da parte aérea fresca pelo método de decocção foi mais eficaz que o derivado da parte aérea seca a partir do mesmo método. Resultado similar ocorreu para os extratos obtidos pelo método de maceração, onde o extrato oriundo da parte aérea fresca demonstrou maior eficácia quando comparado ao extrato derivado da parte aérea seca. Já para os extratos obtidos pelo método de infusão, pode-se notar que o extrato oriundo da parte aérea seca demonstrou ser mais tóxico quando comparado com o extrato obtido da parte aérea fresca por este mesmo método.

Contudo, o extrato obtido através da maceração com a parte aérea fresca de *A. pyrifolium* foi mais tóxico para as larvas do *Ae. aegypti*, quando comparado aos demais extratos aquosos avaliados (**Tabela 9**).

Tabela 8 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição em diferentes concentrações do extrato aquoso obtido da parte aérea seca de *Aspidosperma pyrifolium* pelo método de infusão.

CONCENTRAÇÕES (%)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
100	50,56 ^a	73,89 ^a	86,11 ^a	93,89 ^{ab}	97,78 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
80	61,67 ^a	75,56 ^a	91,67 ^a	97,22 ^a	99,45 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
60	52,78 ^a	71,11 ^a	88,89 ^a	93,33 ^{ab}	98,89 ^a	98,89 ^a	100,00 ^a
40	26,67 ^b	62,78 ^a	75,56 ^a	81,11 ^b	87,78 ^a	90,00 ^a	95,56 ^a
20	13,89 ^{bc}	22,78 ^b	29,44 ^b	37,78 ^c	40,00 ^b	62,78 ^b	81,11 ^b
CONTROLE	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 9 - Concentração Letal 50 dos extratos aquosos obtidos da parte aérea fresca e seca de *Aspidosperma pyrifolium* sobre larvas de *Aedes aegypti*, com 8 e 16 horas de exposição das larvas.

Extratos		Concentração Letal (%)			
		8 horas		16 horas	
		CL ₅₀	IC*	CL ₅₀	IC*
Decocção	Fresco	22,238	21,354-23,091	12,520	10,916-13,890
	Seco	25,058	23,935-26,143	19,279	18,414-20,082
Maceração	Fresco	8,455	6,257-10,606	5,603	3,726-7,473
	Seco	16,417	14,950-17,790	17,579	16,690-18,304
Infusão	Fresco	39,279	37,860-40,680	31,536	30,367-32,681
	Seco	22,226	21,149-23,256	16,910	15,678-18,049

*Intervalo de Confiança

Os extratos aquosos obtidos a partir da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* fresca e seca pelos métodos de decocção, maceração e infusão em diferentes concentrações, demonstraram atividade inseticida eficiente sobre as larvas de *Aedes aegypti*, ocasionando ao final de 24 horas de observação um percentual de mortalidade de 100% na maioria das concentrações em todos os extratos.

O potencial inseticida da planta estudada corrobora com trabalho realizado por Torres et al. (2006) com larvas de primeiro estágio de *Plutella xylostella*, expostas ao extrato aquoso da casca do caule seca de *A. pyrifolium*, obtido pelo método de maceração, onde foi observada uma mortalidade larval de 100%, a uma concentração de 7% (m/v) do extrato, com 72 horas de exposição. Podemos notar através destes dados a ocorrência de 100% de mortalidade larval da espécie citada, numa menor concentração ao compararmos com o nosso trabalho, porém deve-se levar em consideração que as larvas utilizadas na pesquisa do autor encontrava-se no primeiro estágio e o tempo de contato dessas com o extrato foi superior ao que aqui utilizamos.

Os resultados obtidos no presente estudo são bastante relevantes uma vez que podem contribuir com uma alternativa para o controle e redução da proliferação do *Ae. aegypti*, tendo em vista os problemas causados pelo emprego de inseticidas sintéticos e os danos provocados pelo mosquito.

Vale ressaltar que o método de controle entomológico, sobretudo das larvas, através do uso de extratos aquosos, obtidos por métodos de extração mais simples, como a decocção, a maceração ou a infusão, torna-se relevante, uma vez que propiciaria uma maior autonomia da população, como uma alternativa a mais, em relação ao controle das larvas nos diversos criadouros que não podem ser eliminados. Esse fato corrobora com afirmação de Vendramim & Castiglioni (2000), onde os autores ressaltam a fácil obtenção e aplicação dos extratos aquosos e, sobretudo que qualquer pessoa inclusive aquelas de baixa renda que normalmente não dispõe de recursos econômicos e técnicos para aquisição e aplicação dos produtos sintéticos, podem reproduzir e utilizar esses extratos.

O êxito dos resultados referentes aos produtos oriundos de espécies vegetais estão diretamente ligados a forma de preparo e ao método de aplicação e concentração, uma vez que os princípios ativos que atuam nas plantas são instáveis e a sua distribuição na mesma não é homogênea.

No presente estudo o extrato que revelou maior eficácia foi o obtido pelo método de maceração, sendo este um resultado que pode estar provavelmente relacionado com relatos feito por Lignon & Bottecchia (2005), onde os autores afirmam que embora um pouco lenta, a maceração é um método excelente para se obter os princípios ativos das espécies vegetais em toda sua integridade, podendo ser aplicada a qualquer parte da planta. Este fator é de grande relevância, visto que em outros métodos como é o caso da decocção pode ocorrer perda de princípio ativo, como por exemplo, por volatilização caso o método seja aplicado a parte mais brandas das plantas, devendo ser aplicado somente quando o objetivo for de se extrair os princípios ativos de partes mais duras das espécies vegetais, tais como, raízes, cascas e algumas sementes (LORENZI & MATOS, 2002).

Já o método de infusão é bastante empregado para determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante dos vegetais e derivados (ATOUI *et al.*, 2005; KULISIC *et al.*, 2004).

Os resultados apresentados neste trabalho apontam para uma toxicidade da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* bastante interessante se for considerado o potencial da mesma sobre o *Aedes aegypti*, mas é importante ressaltar a preocupação da ação da planta tanto em relação ao ser humano, quanto em relação aos demais organismos presentes no ambiente onde o extrato e substâncias obtidas a partir desta planta serão aplicados, uma vez que a ação citotóxica da mesma não é conhecida. Conforme apontou Pimentel *et al.* (2010) as atividades

humanas, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias que facilitam a execução destas atividades necessitam ser monitoradas de maneira eficaz, para que sejam evitados impactos negativos ao meio ambiente. É importante destacar que mesmo se tratando de produtos naturais, as análises químicas isoladas são insuficientes para se alcançar boas avaliações de risco em amostras ambientais, pois estas não informam a fração de contaminantes disponível para organismos vivos e nem o potencial efeito deles quando agem em sinergismo ou antagonismo (AIT-AISSA *et al.*, 2003), dessa maneira faz-se necessário estudos posteriores que venha contribuir para fornecer um panorama que indiquem a ação dos compostos dessa espécie sobre sistemas fisiológicos de outros animais.

4.2. Avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico e das frações

Com ½ hora de exposição das larvas às diferentes concentrações do extrato etanólico já se observa em torno de 50% de mortalidade larval, sendo que com 16 horas de exposição se atinge 100% de mortalidade nas concentrações de 20 e 15 mg mL⁻¹ e 96,66% na de 10 mg mL⁻¹. Com 24 horas de exposição as três maiores concentrações ocasionaram 100% de mortalidade larval, as quais foram significativamente mais tóxicas que as concentrações de 5 mg mL⁻¹ (48,89%) e a de 3,5 mg mL⁻¹, que não causou mortalidade (p<0,01) (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações do extrato etanólico obtido da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

CONCENTRAÇÕES (mg mL ⁻¹)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½ h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
20	48,89 ^{ab}	81,11 ^a	91,67 ^a	93,89 ^a	93,33 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
15	52,78 ^a	72,78 ^a	81,67 ^a	94,45 ^a	98,33 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
10	30,00 ^b	49,44 ^b	55,00 ^b	66,67 ^b	77,22 ^b	96,66 ^a	100,00 ^a
5	0,00 ^c	4,45 ^c	5,00 ^c	5,56 ^c	6,67 ^c	31,11 ^b	48,89 ^b
3,5	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
CONTROLE	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à fração diclorometânica a mortalidade acima de 50% somente ocorreu após 2 horas de exposição das larvas, não havendo diferença significativa entre as concentrações de 12 e 9 mg mL⁻¹ (61,11 e 57,78%, respectivamente), sendo que a de 9 mg mL⁻¹ não diferiu significativamente da concentração de 7 mg mL⁻¹ (45,56%). A partir de 4 horas de exposição não houve diferença significativa entre as concentrações de 12, 9 e 7 mg mL⁻¹, as quais foram significativamente mais tóxicas (p<0,01) quando comparadas às demais concentrações e ao grupo controle (**Tabela 11**).

Em relação à fração hidroalcóolica, não houve diferença significativa na mortalidade larval entre as cinco concentrações avaliadas e o grupo controle, nas observações realizadas com ½, 1, 2, 4, 8 e 16 horas, após a montagem do experimento, contudo essa diferença ocorreu após 24 h de exposição das larvas ao extrato, onde as concentrações de 12 e 9 mg mL⁻¹ ocasionaram 15 e 13,89%, respectivamente, de mortalidade sendo estas significativamente mais tóxicas (p<0,01) quando comparadas às demais concentrações e ao grupo controle (**Tabela 12**).

Tabela 11 - Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de *Aspidosperma pyriformium*

CONCENTRAÇÕES (mg mL ⁻¹)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
12	18,33 ^a	42,78 ^a	61,11 ^a	78,33 ^a	91,11 ^a	97,22 ^a	98,33 ^a
9	15,00 ^{ab}	37,78 ^a	57,78 ^{ab}	75,56 ^a	87,78 ^a	96,11 ^a	98,90 ^a
7	12,78 ^{ab}	28,89 ^{ab}	45,56 ^b	66,11 ^a	78,89 ^a	90,55 ^a	95,00 ^a
4	2,78 ^b	13,89 ^{bc}	23,33 ^c	40,56 ^b	55,00 ^b	73,33 ^b	78,90 ^b
2	0,56 ^b	1,11 ^c	3,33 ^d	8,33 ^c	12,78 ^c	20,00 ^c	26,11 ^c
CONTROLE	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c	0,56 ^d	0,56 ^d

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 12 - Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração hidroalcoólica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

CONCENTRAÇÕES (mg mL ⁻¹)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½ h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
12	1,11 ^a	3,33 ^a	3,33 ^a	3,89 ^a	4,45 ^a	6,11 ^a	15,00 ^a
9	0,00 ^a	2,78 ^a	2,78 ^a	2,78 ^a	3,33 ^a	4,44 ^a	13,89 ^a
7	0,56 ^a	0,56 ^a	0,56 ^a	0,56 ^a	0,56 ^a	1,11 ^a	1,67 ^b
4	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^b
2	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^b
CONTROLE	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^b

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação à fração diclorometânica e acetato de etila, com ½ e 1 hora de exposição das larvas ao extrato a concentração de 10 mg mL⁻¹ foi significativamente mais efetiva (p<0,01) que as demais concentrações e o grupo controle (**Tabela 13**). A mortalidade acima de 50% ocorreu somente após 8 horas de exposição das larvas, não havendo diferença significativa entre as concentrações de 10 e 7,5, 5,8 e 3,3 mg mL⁻¹ (73,33%, 69,45% 59,44% e 57,22%, respectivamente), sendo que as mesmas demonstraram-se significativamente mais tóxicas (p<0,01) que a concentração de 1,7 mg mL⁻¹ (20,55%) e o grupo controle (0,56%), esta diferença foi observada também com 24 horas após o início do experimento (**Tabela 13**).

No que tange a fração diclorometânica e hexânica, a mortalidade acima de 50% ocorreu com 1 hora após o início da exposição das larvas ao extrato. Logo após 2 horas, as concentrações de 10 e 7,5 mg mL⁻¹ foram significativamente mais tóxicas (p<0,01) que as demais concentrações e o grupo controle (**Tabela 14**). Com 16 horas de exposição das larvas ao extrato todas as concentrações apresentaram um percentual de mortalidade acima de 50%, destacando que o grupo controle não ocasionou mortalidade. Após 24 horas, as concentrações de 10 e 7,5, 5,8 e 3,3 mg mL⁻¹ não diferiram significativamente entre si (98,33%, 97,22% 95% e 88,33%, respectivamente), contudo a concentração de 3,3 mg mL⁻¹ não diferiu também da concentração de 1,7 mg mL⁻¹ que apresentou 81,67% de mortalidade. Não houve mortalidade no grupo controle (**Tabela 14**).

Tabela 13 - Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica + acetato de etila obtida a partir do fracionamento da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

CONCENTRAÇÕES (mg mL ⁻¹)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
10	31,67 ^a	39,45 ^a	45,00 ^a	46,67 ^a	64,44 ^a	73,33 ^a	82,22 ^a
7,5	18,34 ^b	23,89 ^b	32,78 ^{ab}	46,11 ^a	63,33 ^a	69,45 ^{ab}	81,11 ^a
5,8	16,67 ^b	18,89 ^b	30,00 ^{bc}	45,00 ^a	52,22 ^a	59,44 ^{ab}	77,22 ^a
3,3	12,22 ^b	16,67 ^b	23,89 ^{bc}	33,89 ^{ab}	51,67 ^a	57,22 ^b	76,11 ^a
1,7	8,89 ^{bc}	15,55 ^b	19,44 ^c	20,55 ^b	20,55 ^b	20,55 ^c	22,22 ^b
CONTROLE	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c	0,56 ^c	0,56 ^d	0,56 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 14 - Percentual de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, em relação ao tempo de exposição às diferentes concentrações da fração diclorometânica + hexânica obtida a partir do fracionamento da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

CONCENTRAÇÕES (mg mL ⁻¹)	MORTALIDADE (%) ¹						
	½h	1h	2h	4h	8h	16h	24h
10	25,00 ^a	58,34 ^a	70,00 ^a	81,11 ^a	88,89 ^a	95,00 ^a	98,33 ^a
7,5	12,22 ^b	40,56 ^b	61,67 ^a	77,22 ^{ab}	85,56 ^{ab}	93,33 ^a	97,22 ^a
5,8	1,67 ^c	18,89 ^c	43,34 ^b	65,56 ^b	76,11 ^b	90,56 ^a	95,00 ^a
3,3	1,11 ^c	5,00 ^d	8,89 ^c	18,89 ^c	20,56 ^c	68,33 ^b	88,33 ^{ab}
1,7	0,00 ^c	2,22 ^d	8,34 ^c	10,56 ^{cd}	13,33 ^c	55,56 ^c	81,67 ^b
CONTROLE	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^c

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Em um trabalho realizado por Trindade et al. (2008) com larvas de primeiro estágio de *Plutella xylostella*, expostas ao extrato etanólico da casca do caule de *A. pyrifolium*, foi observada uma mortalidade larval de 100%, em uma concentração de 5 mg mL⁻¹ do extrato, após 72 horas de experimento.

Trindade et al. (2013) realizou estudo com *Diatraea saccharalis* tratadas com extrato etanólico da casca do caule, madeira e folhas de *Aspidosperma pyrifolium* a 5 mg mL^{-1} , onde as variáveis estudadas foram percentagem de ovos parasitados e de emergência dos adultos, sendo observado um percentual de parasitismo igual a 50,23%, e um valor de emergência dos parasitoides de 38,90%, evidenciando a ação tóxica dessa planta, visto que a testemunha apresentou um valor de emergência igual a 62,30%.

A análise da concentração letal revelou um aumento na toxicidade a partir do fracionamento do extrato etanólico, visto que as frações diclorometânica e diclorometânica + hexânica foram mais efetivas que o extrato etanólico. Contudo, este apresentou maior efetividade quando comparado as frações hidroalcoólica e diclorometânica + acetato de etila. Com 16 horas de exposição das larvas é necessário uma concentração de $5,903 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato etanólico, $3,085 \text{ mg mL}^{-1}$ da fração diclorometânica, $15,216 \text{ mg mL}^{-1}$ da fração hidroalcoólica, $6,597 \text{ mg mL}^{-1}$ da fração diclorometânica + acetato de etila e $5,354 \text{ mg mL}^{-1}$ da fração diclorometânica + hexânica para ocasionar 50% de mortalidade larval e de $8,239 \text{ mg mL}^{-1}$, $6,739 \text{ mg mL}^{-1}$, $23,797 \text{ mg mL}^{-1}$, $10,504 \text{ mg mL}^{-1}$ e $7,310 \text{ mg mL}^{-1}$, para o extrato etanólico, fração diclorometânica, fração hidroalcoólica, fração diclorometânica + acetato de etila e fração diclorometânica + hexânica, respectivamente, para atingir 90% de mortalidade larval (**Tabela 15**). Os resultados demonstram a eficácia da fração diclorometânica quando comparada ao extrato etanólico e também as demais frações, cujas concentrações letais são significativamente mais baixas.

O efeito larvicida dos extratos estudados podem estão associados aos diversos compostos presentes na espécie, corroborando com relatos de Aguiar-Menezes (2005), onde o autor chama também à atenção para a atuação dos princípios ativos presentes nas plantas que são normalmente compostos por uma complexa mistura de substâncias que pode causar inibição da alimentação de insetos ou dificultar o seu crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento, apresentar ainda ações tóxicas capazes de atuar sobre o sistema nervoso central, podendo causar a morte dos insetos, e ainda podendo atuar como agente antialimentar, impedindo que os insetos iniciem a alimentação, contribuindo assim para sua morte. Esses compostos podem ainda está agindo isoladamente ou em sinergismo, fato esse que pode ser comprovado com relatos feitos por Bessa (2007) onde o autor afirma que o extrato bruto pode apresentar em alguns casos maior efeito quando comparado com suas respectivas frações onde alguns compostos são isolados, e em outras situações o isolamento

desses compostos facilita o conhecimento da estrutura química das plantas além de contribuir com a produção de derivados semissintéticos, sendo que estes podem atuar com um melhor desempenho no que tange à potência, estabilidade ou segurança do composto.

Alguns trabalhos demonstram que as substâncias puras isoladas são menos ativas que suas frações de origem (Simas *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2007), sugerindo assim um efeito sinérgico de compostos presentes na fração. No entanto, em outros trabalhos como o realizado por Guissoni *et al.* (2013) o fracionamento originou uma fração mais ativa que o extrato bruto inicial. Neste trabalho, notamos também uma maior efetividade após o fracionamento do extrato bruto.

A prospecção fitoquímica preliminar realizada com o extrato etanólico obtido da parte aérea de *A. pyrifolium*, revelou a presença de bases quaternárias, catequinas, esteroides livres, flavonóis, flavanóis, flavononas, flavonas, resinas, saponinas, taninos condensados, triterpenóides e xantona, bem como a ausência de ácidos fixos fortes, aglicona esteróide e triterpenóides, alcalóides, antocianidinas, antocianinas, cumarina, heterosídeos cianogênicos, leucoantocianidinas e quinonas (**Tabela 16**).

Em estudos anteriores como o realizado por Mathivanan *et al.* (2010) com extrato metanólico de *Ervatamia coronaria* Stapf. (Apocynaceae) pode-se confirmar a presença de saponinas, taninos e flavonóides nesta família.

A identificação de flavonóides no extrato etanólico de *A. pyrifolium* no presente estudo corrobora também com pesquisa realizada por Jácome *et al.* (2003) com extrato etanólico da casca do caule *Aspidosperma parvifolium*, cuja classe de metabólitos também foi detectada.

Os Flavonóis, flavanóis, flavononas e flavonas, encontrados no extrato etanólico da parte aérea de *A. pyrifolium*, cujos espectros RMN ^1H nas frações hexânica, diclorometânica e de acetato de etila contêm vários multipletos com deslocamentos químicos para hidrogênios aromáticos entre 7 e 9ppm caracterizam os grupos de Flavonóis, flavanóis e flavononas nessas frações (**Figuras 21, 22 e 23**), representam subclasses de flavonóides que se classifica como uma classe de compostos naturais de relevante interesse científico e terapêutico e que apresentam estrutura fenólica variável, resultante da sua diversidade na natureza (BEHLING *et al.*, 2004). Tais metabólitos secundários desempenham importantes funções nos vegetais e apresentam diversas atividades biológicas, por exemplo, a proteção contra fungos, bactérias e insetos (SILVA *et al.*, 2014).

Tabela 15 - Concentração Letal 50 e 90 do extrato etanólico, da fração diclorometânica e da fração hidroalcolólica e dos compostos diclorometânico + acetato de etila e diclorometânico + hexânico, obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*, sobre larvas de *Aedes aegypti*, com 8 e 16 horas de exposição da larvas

Extratos/Frações/ Compostos	Concentração Letal (mg mL ⁻¹)							
	8 horas				16 horas			
	CL ₅₀	IC*	CL ₉₀	IC*	CL ₅₀	IC*	CL ₉₀	IC*
Etanólico	8,299	8,077-8,523	13,516	13,063-14,021	5,903	5,763-6,055	8,239	7,930-8,603
Diclorometânica	4,038	3,870-4,204	10,020	9,492-10,634	3,085	2,955-3,213	6,739	6,433-7,088
Hidroalcolólica	15,952	13,491-22,025	24,843	18,894-42,251	15,216	13,231-19,377	23,797	18,832-35,781
D + AE**	7,011	6,878-7,152	12,043	11,499-12,699	6,597	6,489-6,707	10,504	10,152-10,914
D + H**	6,557	6,484-6,630	8,593	8,447-8,755	5,354	5,281-5,425	7,310	7,181-7,452

*Intervalo de Confiança.

**D + AE = Diclorometânica + Acetato de Etila e D + H Diclorometânica + Hexânica.

As saponinas, metabólito encontrado no extrato etanólico (**Tabela 16**), cujos espectros de RMN ^1H indicaram presença prótons alifáticos nos pontos abaixo de 4ppm nas frações diclorometânica e de acetato de etila caracterizando essa classe de metabólitos nas respectivas frações (**Figuras 22 e 23**), são substâncias que possuem uma elevada massa molecular e geralmente a sua ocorrência se dá em misturas complexas, como por exemplo, a existência paralela de estruturas com um número variado de açúcares ou ainda devido à presença de diversas agliconas (SPARG *et al.*, 2004). As saponinas possuem propriedades antiinflamatória, antifúngica, antibacteriana, antimicrobiana, antiparasitária, citotóxica, antitumoral, antiviral (LOPES *et al.*, 2011), além de já haver relatos na literatura desse metabólito com atividade larvicida sobre *Ae. aegypti* (SANTIAGO *et al.*, 2005).

Os triterpenoides já tiveram sua atividade inseticida também destacada na literatura conforme apontou Aguiar-Menezes (2005). A prospecção fitoquímica preliminar, através da metodologia proposta por Matos (1988) indicou a presença desse metabólito no extrato etanólico (**Tabela 16**) e os espectros de RMN ^1H revelou a presença de hidrogênios aromáticos nos pontos acima de 7ppm contribuindo para que pudéssemos inferir a presença dessa classe de substâncias nas frações hexânica e diclorometânica (**Figuras 21 e 22**).

A análise dos espectros de RMN ^1H revelou a presença prótons olefínicos com picos entre os pontos 6 e 7ppm na fração diclorometânica (**Figura 22**) sugerindo a presença de heterosídeos cianogênicos na respectiva fração. Acredita-se que a presença dessa classe de metabólitos, pode estar contribuindo para uma maior eficácia da mesma quando comparada ao extrato etanólico e a fração hidroalcóolica, pois conforme apontado por Santos (2003) heterosídeos cianogênicos são compostos oriundos da ligação covalente formada entre uma ou mais unidades de açúcar e uma estrutura de aglicona. Esses compostos após sofrer hidrólise produzem ácido cianídrico, glicose e benzaldeído atribuindo as plantas propriedades tóxicas (HARBORNE & WILLIANS, 2000; GLEASON 2011). Além disso, tanto os heterosídeos cianogênicos como também os taninos condensados revelados por espectros de RMN ^1H na fração diclorometânica (**Tabela 16**), podem estar agindo com maior efetividade na fração diclorometânica quando examinada unicamente do que quando em conjunto com as frações diclorometânica quando examinada unicamente do que quando em conjunto com as frações acetato de etila e/ou hexânica. Os taninos condensados são oligômeros e polímeros que se formam devido a policondensação de duas ou mais unidades flavanoídicas, e possuem grande

Tabela 16 - Prospecção fitoquímica do extrato bruto etanólico obtido da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* e das frações hexânica, diclorometânica, acetato de etila e hidroalcolólica

Metabólito Secundário	Extrato Etanólico ¹	Frações ²			
		Hexano	Diclorometano	Acetato de Etila	Hidroalcolólica
Ácidos fixos fortes	-	-	-	-	-
Aglicona esteroide e triterpenoides	-	++	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-
Antocianidinas	-	-	-	-	-
Antocianina	-	-	-	-	-
Bases quaternárias	+	-	-	-	-
Catequinas	+	+	++	++	-
Cumarina	-	-	-	-	-
Derivados cinâmicos	NR	-	-	-	++
Esteroides livres	+	+	+	+	-
Flavonois	+	+	+	+	-
Flavanonois	+	+	+	+	-
Flavanonas	+	+	+	+	-
Flavonas	+	-	-	-	-
Glicosídeos	NR	-	-	++	++
Heterosídeo cianogênicos	-	-	+	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-
Quinonas	-	-	-	-	-
Resina	+	-	-	-	-
Saponinas	+	-	+	+	-
Taninos condensados	+	-	+	-	-
Triterpenoides	+	++	+	-	-
Xantona	+	-	-	-	-

¹Prospecção fitoquímica segundo metodologia preconizada por Mattos (1988).

²Prospecção fitoquímica através da Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H).

³Presença média (++), Presença fraca (+), Ausente ou resultado inconclusivo (-), Não realizado (NR).

importância biológica por apresentarem fortes interações com algumas macromoléculas como os polissacarídeos, sendo ainda capazes de formar complexos solúveis com alcalóides, gelatinas e diversas proteínas. Essa habilidade que os taninos exibem para interagir com proteínas faz com que essa classe de substâncias apresente propriedades bastante tóxicas a insetos, fungos e bactérias (SIMÕES *et al.*, 2001).

A toxicidade dos taninos pode ser também confirmada em estudo realizado por Silva *et al.* (2004b), onde os autores atribuiu a essa substância um potencial efeito larvicida sobre *A. aegypti*.

As catequinas, substância fortemente positiva nas frações hexânica e diclorometânica (**Tabela 16**), são compostos pertencentes ao grupo de polifenóis, conhecidas por apresentarem uma série de atividades biológicas como propriedades antioxidantes, quimioprotetora, termogênicas, antiinflamatória e anticarcinogênica, além de um efeito quimioprotetor (SCHMITZ *et al.*, 2005; MATSUBARA & AMAYA, 2006).

Os espectros de RMN ^1H revelou a presença prótons alifáticos nos picos abaixo do ponto 4ppm (**Figura 24**) indicando a presença de derivados cinâmicos e glicosídeos, na fração hidroalcolólica (**Tabela 16**).

A família Apocynaceae, da qual faz parte *A. Pyrifoilium*, é conhecida pela presença freqüente de alcaloides em suas estruturas químicas (PEREIRA *et al.*, 2007). Araújo Jr. *et al.* (2007), ao realizarem a investigação fitoquímica do extrato aquoso da casca do caule de *A. Pyrifoilium*, detectaram a presença desses compostos. Contudo, na prospecção fitoquímica realizada com a parte aérea, objeto desse estudo, não foi encontrado essa classe de metabólitos em nenhum dos extratos.

Dessa forma, a possibilidade de que os alcaloides sejam encontrados em outros órgãos da espécie não deve ser descartada. Além disso, a produção dos metabólitos secundários pelas espécies vegetais podem variar em função de alguns fatores tais como, desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico; temperatura e altitude, entre outros (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Assim, há que se levar em consideração esses aspectos quando se estiver avaliando o potencial farmacológico e/ou inseticida de uma planta, assim como na prospecção fitoquímica.

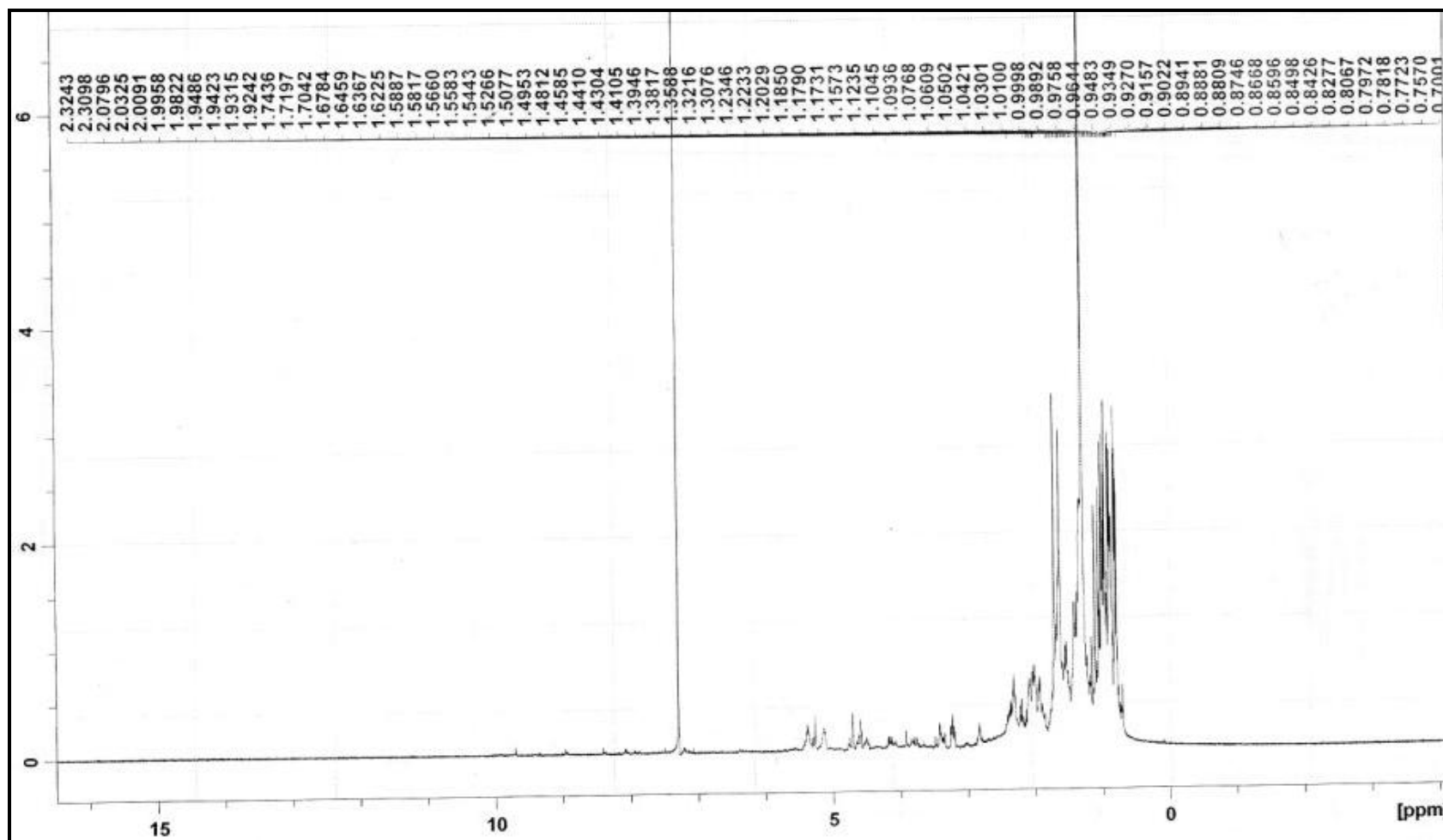


Figura 21 – Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) da fração hexânica da parte aérea de *Aspidosperma pyriforme*.

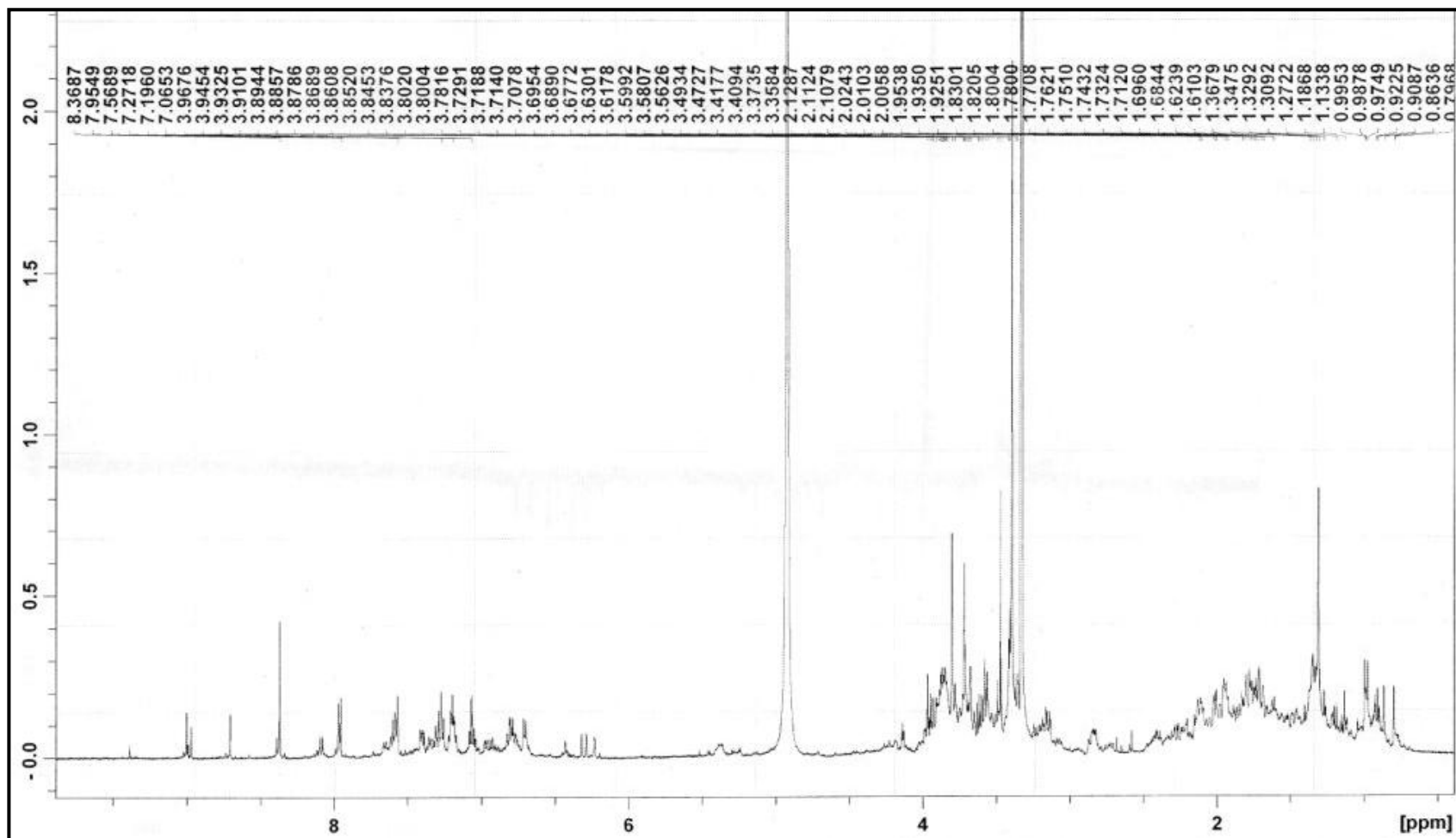


Figura 22 – Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) da fração diclorometânica da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

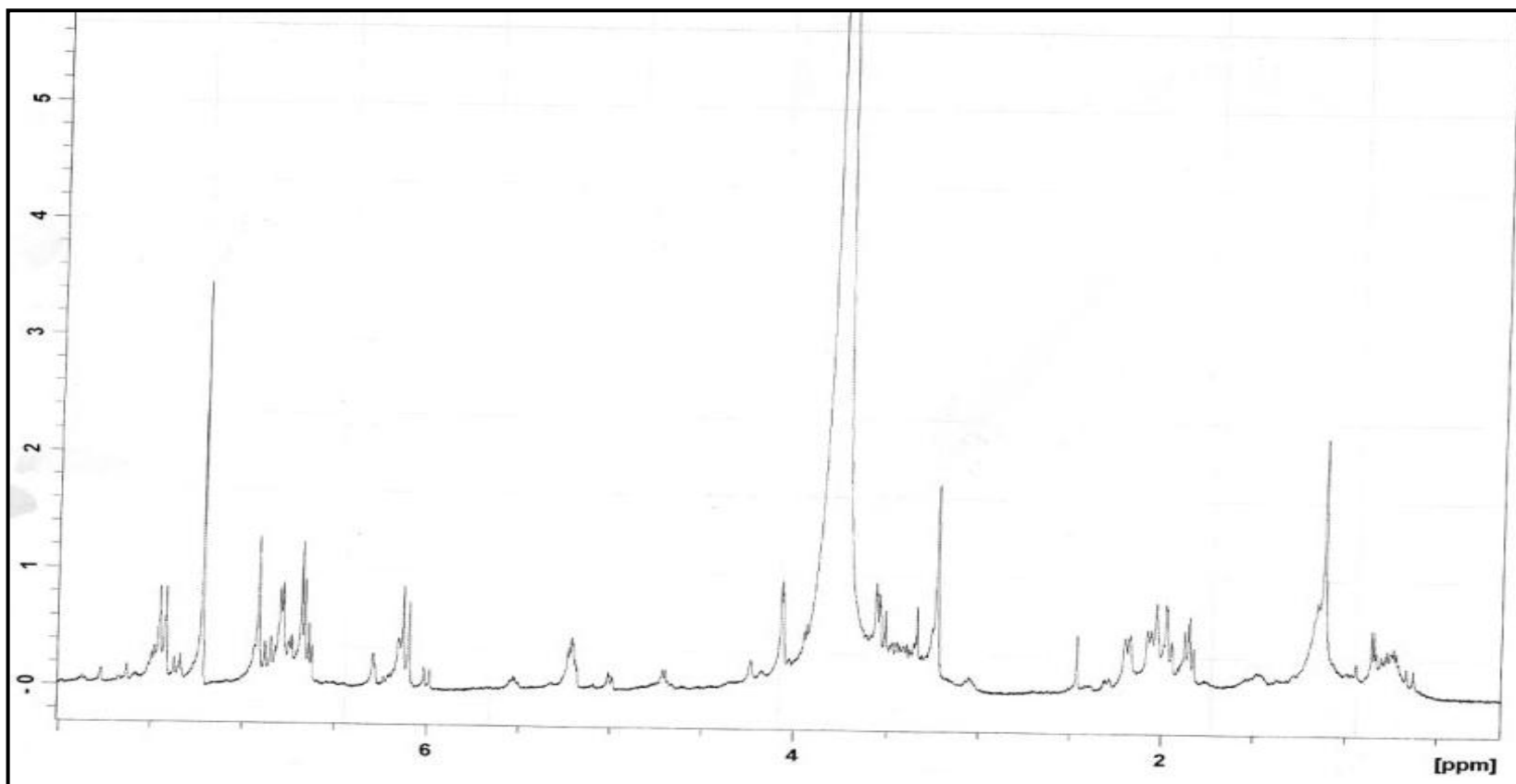


Figura 23 – Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) da fração acetato de etila, da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*

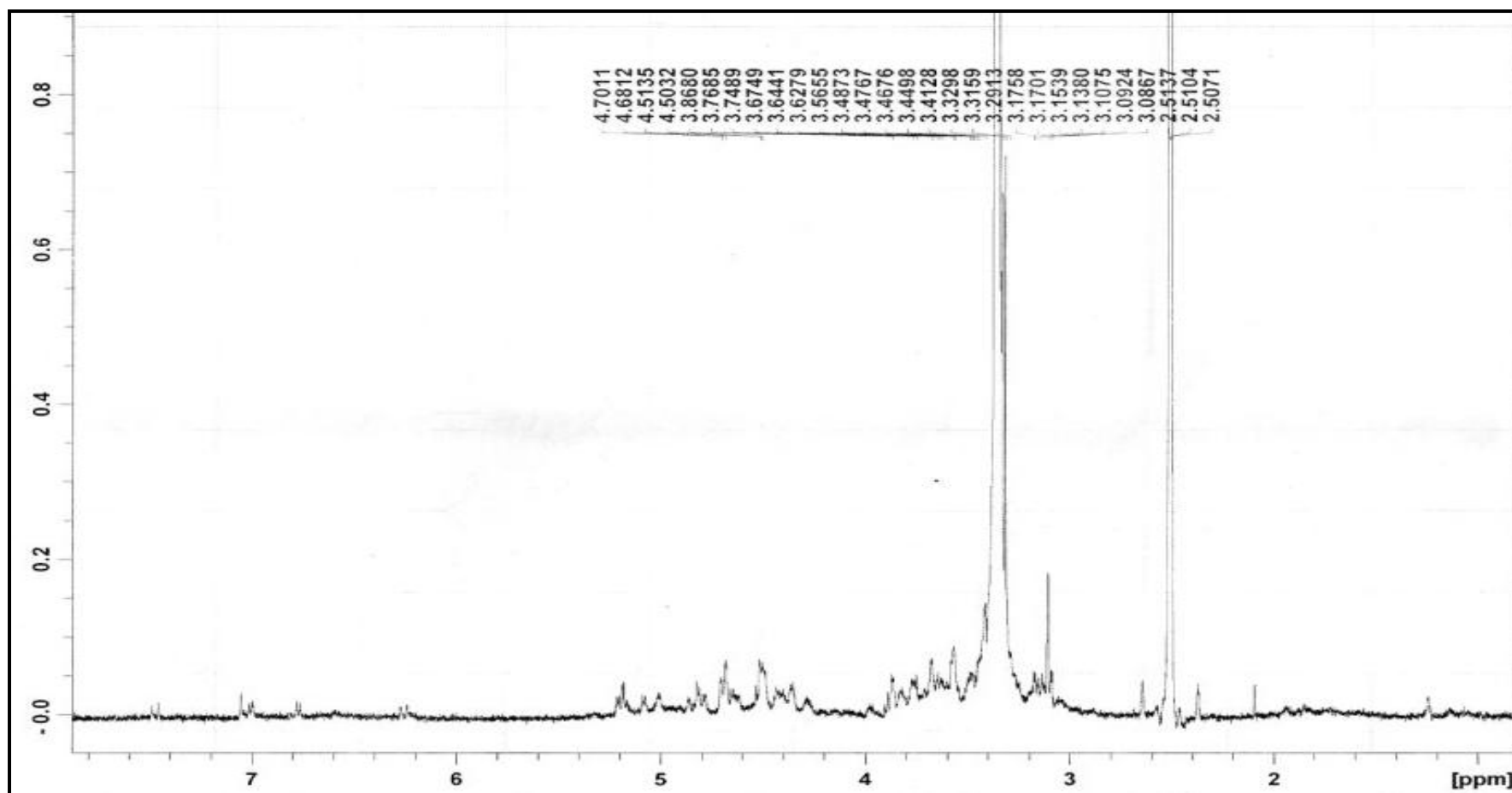


Figura 24 – Espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) da fração hidroalcoólica da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium*.

5 CONCLUSÃO

1 Dentre os métodos de obtenção dos extratos aquosos, a maceração realizada com a parte aérea fresca de *Aspidosperma pyrifolium* apresentou maior toxicidade sobre as larvas de *Aedes aegypti*.

2 O extrato etanólico apresentou efeito tóxico sobre o *Aedes aegypti*, contudo este foi menos tóxico quando comparado à fração diclorometânica.

3 Diante dos resultados constatados pode-se inferir que os extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* avaliados neste trabalho, são potencialmente promissores como larvicida, podendo vir a ser uma forma alternativa de controle do *Aedes aegypti*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR-MENEZES, E. L. Inseticida botânico: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**. Seropédica, RJ. 2005. 58 p.
- AIT-AISSA, S., PANDARD, P., MAGAUD, H., ARRIGO, A. P., THYBAUD, E. & PORCHER, J. M., Evaluation of an in vitro hsp70 induction test for toxicity assessment of complex mixtures: comparison with chemical analyses and ecotoxicity tests. **Ecotoxicology Environment Safe**. n.54, p. 92-104. 2003.
- ARAÚJO Jr, 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**, v. 6, p. 183–188, 2007.
- ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food chemistry**, Barking, v. 89, n. 1, p. 23-36, jan, 2005.
- BARATA, E. A. M. F.; NETO, F. C.; DIBO, M. R; MACORIS, M. L. G.; BARBOSA, A. A. C.; NATAL, D.; BARATA J. M. S; ANDRIGUETTI, M. T. M. Captura de culicídeos em área urbana: avaliação do método das caixas de repouso. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.41, p.375-82, 2007.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* – Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás v.1, n.2 p. 62-73, nov. 2005.
- BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 3, p. 285-292, 2004.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M. F. C; CASTRO JR, F. P. Resistência de populações de *Aedes* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 36, n.2, p. 303-307, 2007.
- BESSA, T.; TERRONES, M. G. H.; SANTOS, D. Q. Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*. **Revista Horizonte Científico** vol.1, nº 7, Uberlândia/MG, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Doenças Infecciosas e parasitárias: aspectos clínicos, vigilância epidemiológica e medidas de controle – Guia de bolso. 2. Ed. Brasília: **Ministério da Saúde**: FUNASA; 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde – 6. ed. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2005. 816 p.

BROWN, A. W. A. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **Journal of the American Mosquito Control Association**, p. 123-140, 1986.

BOURDY, A. G. P.; OPORTO, B. A.; GIMENEZ, B. E.; DEHARO, A. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through multidisciplinary approach Part VI. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by Isoceño-Guaran Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p.269-277, 2004.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no distrito federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 623-629, 2004.

CARVALHO, G. H. F.; SILVA, H. H. G.; CUNHA, L. C; SILVA, I. G. Atividade inseticida do extrato bruto etanólico de *Persea americana* (Lauraceae) sobre larvas e pupas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista de Patologia Tropical**, Vol. 40 (4): 348-361. out.-dez. 2011.

CAVALHEIRO M. G.; FARIAS, D. F; FERNANDES, G. S; NUNES, E. P; CAVALCANTI, F. S; VASCONCELOS, I. M; MELO, V. M. M; CARVALHO, A. F. U. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy** v. 19 n. 2B: p. 586-591, Abr./Jun. 2009.

CLEMENTS, A. N. A biologia dos mosquitos, vol. 2: recepção e comportamento sensorial. **CAB International, Wallingford**, Reino Unido, 2001.

COELHO, G. E. Dengue: desafios atuais. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 231-233, jul-set., 2008.

CONSOLI, R & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 1994. 225p.

CORREA. M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: IBDF, v.5, 1978. 687p.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. A.; MAIA, B. H. L. N. S.; DUARTE, M. C. T.; AMARAL, A. C. F.; MACHADO, G. M. C. & LEONOR, L. L. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32: p. 78-81, 2009.

CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; SERUR, L. M. Alkaloids of *Aspidosperma pyrifolium*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 6, p. 1526-1528, 1983.

CHIESA F. A. F. & MOYNA, P. Alcalóides esteroidales. In Simões C. M. O.; Schenkel E.P., Gosmann G., Mello J.C.P., Mentz L.A. & Petrovick P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5a ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p. 869-883. 2004.

DEWICK, P. M.. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**, 2a. ed., John Wiley e Sons Ltd.: Chichester, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/0470846275>>. Acesso em: 25 de mai. 2014.

De SOUZA LIMA, M. C. J. & SOTO-BLANCO, B. Poisoning by *AspidospermaPyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects. **Toxicon** (oxford) JCR, v. 55, p. 320-324, 2010.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Editora UNESP, 2ed., 2002.

DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, S. G.; PERES, J. M; NASCIMENTO, J. M. S.; PÓVOA, M. M.; OLIVEIRA, A. B. *In vitro* antimalarial activity of six *Aspidosperma* species from the state of Minas Gerais (Brazil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 84 , n. 4, Rio de Janeiro, Dec. 2012.

DONALÍSIO, M. R & GLASSER, C. M. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, 2002.

FIGUEIREDO, J. M; ARAÚJO, J. M; PEREIRA O. N; BAKKE, I. A; BAKK, O. A. Revegetation of degraded caatinga sites. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 24, n. 3; p. 332–343, 2012.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. Vol. 2. São Paulo: EDUSP, 2002. 864 p.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA) - MS. Dengue - **Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor: manual de normas técnicas**. Brasília, abr. 2001.

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. Disponível em: <<http://www.uff.br/rvq>>. Acesso em: 26 de mai. 2014.

GLEASON, F. K. **Plant Biochemistry**. University of Minnesota. Jone & Bartlet press, 2011. 248p.

GOBBO-NETO, L & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOES, A. C. A. M.; RODRIGUES, L. V; MENEZES, D. B.; GRANGEIRO, M. P. F; CAVALCANTE, A. R. M. S. Análise histológica da cicatrização da anastomose colônica, em ratos, sob ação de enema de Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* fr. all.) a 10%. **Acta Cirúrgica Brasileira** – v. 20, n. 2, 2005.

GOVINDARAJAN. M & SIVAKUMAR. R . Adulticidal and repellent properties of indigenous plant extracts against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research** , v. 110, p. 1607–1620, 2012.

GUBLER, D.; CLARK G. G. Dengue/Dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. **Emerging Infectious Diseases**, v. 1, p. 55-57, 1995.

GUBLER, D. J. Human arbovirus infections worldwide. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 951, p. 13-24, 2001.

GUIMARÃES, I. P.; COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. Pau branco (*Cordia oncocalix* Allemão) - Boraginaceae: Árvore endêmica da Caatinga. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró – RN - BRASIL, v. 8, n. 5, p. 31 - 39, (Edição Especial) dezembro, 2013.

GUISSONI, A. C. P.; SILVA, I. G.; GERIS, R.; CUNHA, L. C.; SILVA, H. H. G. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.3, p.363-367, 2013.

HARBACH, R. E. **Mosquito Taxonomic Inventory**. 2011. Disponível em <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>>. Acesso em: 18 de jun. 2014.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, p.481-504, 2000.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51; p. 45-46, 2006.

JÁCOME, R. L. R. P.; SOUZA, R. A.; OLIVEIRA, A. B. Comparação cromatográfica entre o extrato de *Aspidosperma parvifolium* e o fitoterápico "Pau-Pereira". **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 39 – 41. 2003.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHU, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. Tradução André Olmos Simões *et al.* 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

JUNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; KATALINIC, V.; MILOS, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, Barking, v. 85, n.4, p. 633-640, may., 2004.

LEAL, I. R., SILVA, J. M. C., TABARELLI, M. & LACHER JR., T. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 139-146, 2005.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. **Biodiversidade Brasileira: Síntese do Estado Atual do Conhecimento**, nov. 2000. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sbf/chm/doc/estarte.doc>>. Acesso em: 25 de mai. 2014.

LIMA, P. C. F.; LIMA, J. L. S. Composição florística e fitossociologia de uma área de caatinga. **Acta botânica brasílica**. V. 12, n. 3. P. 441-450. (Suplemento), 1998.

LIMA, E. P.; FILHO, A. M. O.; LIMA, J. W. O.; JÚNIOR, A. N. R.; CAVALCANTI, L. P. G.; PONTES, R. J. S. Resistência do *Aedes aegyptii* a temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n.3, p. 259-263, mai.-jun., 2006.

LIMA, M. C. J. S. & SOTO-BLANCO, B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects. **Toxicon**. v. 55, p. 320–324. 2009.

LIGNON, G. B., & BOTTECCHIA, R. J. **Criação de Animais sob Influência de um Sistema Integrado de Produção Agroecológica**, 2005.

LOPES, T. C. L.; GONÇALVES, J. R. S.; SOUZA, N. S.; MORAES, D. F. C.; AMARAL, F. M. M.; ROSA, I. G. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. **Cadernos de Pesquisa**., São Luís, v. 18, n. 3, p.23-30, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; **Plantas Medicinais no Brasil**. Nova Odessa – SP. 2002.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais insetos vetores e mecanismos de transmissão das doenças infecciosas e parasitárias. In: Coura, JR (ed.). **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**, 1ª Ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, Vol 2, p. 2025, 2005.

LOZOVEI, A. L. Micro-habitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em Internódios de Taquara na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. **Iheringia**, Série Zoológica, 90: 3-13, 2001.

LUCA, V. & PIERRE, B. S. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. **Trends in Plant Science**, v.5, p.168-73, 2000.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temefós e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 842-843, 2004.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2ª ed. Fortaleza: Edições UFC, 1988. 141 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**; 1ª ed. São. Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 41 p., 2004.

MATHIVANANA, T.; GOVINDARAJANA, M.; ELUMALAIB, K.; KRISHNAPPA, K.; ANANTHANA, A. Mosquito larvicidal and phytochemical properties of *Ervatamia coronaria* Stapf. (Family: Apocynaceae). **J Vector Borne Dis** 47, September 2010, pp. 178–180.

MATSUBARA, S.; AMAYA, D. B. R.; Teores de catequinas e teafloavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 2 p: 401-407, 2006.

MEDEIROS, R. M. T.; NETO, S. A. G.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; SOUSA, N. L. Mortalidade embrionária e abortos em caprinos causados por *Aspidosperma pyriforme*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, suplemento, p.42-43, 2004.

MELO, B. A.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; 2; LEITE, D. T.; 1; GODOY, M. S.; ARAUJO, E. L. Bioatividade de pós de espécies vegetais sobre a reprodução de *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Bioscience Journal**., Uberlândia, v. 30, supplement 1, p. 346-353, Jun, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. - 3. ed., rev. **Brasília** : Ministério da Saúde : Fundação Nacional de Saúde, 84 p., 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Informe Epidemiológico da Dengue** - Análise de situação e tendências; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA/SBF, 2002. 404 p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica: Brasil**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA, 2011. p. 248.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.205-207. 2002.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A. & DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 1: p. 1-6, 2009.

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 de Plantas Medicináveis**, Botucatu, v.11, n.1, p.92-99, 2009.

OLIVEIRA, G. P.; SILVA, S. L. C.; 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**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 442, 2014.

PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v.30, n.4, p. 1-14, 2007.

PEREZ, D. Etnobotânica medicinal y biocidas para malaria en la región Ucayali. **Folia Amazónica**, v.13, p.87- 108, 2002.

PIMENTEL, M. F. ; SILVA JÚNIOR, F. C. G. ; SANTAELLA, S. T. ; LOTUFO, L. V. C. O Uso de *Artemia* sp. como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology.**, v. 6, n. 1, p.15-22, 2010.

PRADO, D. E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C.(Eds). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, PE, pp. 03-74, 2003.

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DO DENGUE [PNCD]. Brasília: **Ministério da Saúde**, 32p. 2002.

REY, L. **Parasitologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

ROTHMAN, A. DENGUE: definig protective versus pathologic immunity. **The journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 7, p. 946-951, abr. 2004.

SANTIAGO, G. M. P.; VIANA F. A.; PESSOA, O. D. L.; SANTOS, R. P.; POULIQUEN, Y. B. M.; ARRIAGA, A. M. C.; ANDRADE-NETO, M.; BRAZ-FILHO, R. Avaliação da atividade larvicida de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy.**, v. 15, n. 3, p.187-190, Jul./Set. 2005.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: Editora Universidade, UFRGS, p.403, 2003.

SATHE, T. V & GIRHE, B. E. Mosquitoes and Diseases. Daya Publishing House, **New Delhi**, Índia, 2002.

SANTOS, A. C. B.; SILVA, M. A. P.; SANTOS, M. A. F.; LEITE, T. R. Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. ocorrentes no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.3, p.442-458, 2013.

SHATZMAYR, H. G. Dengue situation in Brazil by year. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 179-181, 2000.

SCHMITZ, W; SAITO, A. Y; ESTEVÃO, D; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 26, n. 2, p.119-130, jul./dez. 2005.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE (SVS/MS). **Informe epidemiológico da dengue**. Brasília - DF, 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_epidemiologico_semana_1a52_09_r_evisado.pdf>. Acesso em: 18 de jun. 2014.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE (SVS/MS). **Informe epidemiológico da dengue**. Brasília - DF, 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_dengue_se_26_final_11_8_10.pdf>. Acesso em: 05 de jun. 2014.

SELVARAJ, M. & MOSSES, M. Efficacy of *Melia azedarach* on the Larvae of Three Mosquito Species *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **European Mosquito Bulletin**, v. 29, p. 116-121, 2011.

SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. (Org.). **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, 382 p. 2004a.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M. G.; FILHO, E. R.; ELIAS, C. N. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, n. 5, p. 396-399, set-out, 2004b.

SILVA, D. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; Odaci F. de Oliveira, O. F. Toxic Plants for livestock in the Western and eastern Seridó, State do Rio Grande do Norte, in the Brazilian semiarid. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.26, 223-236, 2006.

SILVA, H. H. G.; GERIS, R.; FILHO, E. R.; ROCHA, C.; SILVA, I. G. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.3, p.264-67, 2007.

SILVA, S. L. C.; GUALBERTO, S. A.; MACEDO, G. E. L.; SILVEIRA, T. C. S.; SILVA, D. C. Plantas medicinais usadas pela comunidade do povoado de Laços (Tanhaçu/Bahia) e encontradas na Floresta Nacional Contendas do Sincorá. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 3, p. 130-136, jul-set., 2012.

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

SIMAS, N. K; LIMA, E. C; CONCEIÇÃO, S. R; KUSTER, R. M, FILHO, A. M. O. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myrozyllon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P, MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

SOUZA S. M.; AQUINO, L. C.; MILACH. A. C. Jr.; BANDEIRA, M. A.; NOBRE, M. E.; VIANA. G. S. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 3. p. 220-225, 2007.

SOUZA, V. C. & LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia de ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2 ed. São Paulo: **Instituto Plantarum**, 2008. 704p.

SPARG, S. G.; LIGHAT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 219-243, 2004.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17, p. 99-102, 2001.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.18, p. 867-871, 2002.

TEIXEIRA, K. R. P.; BRITO, J. R.; OLIVEIRA, L. M. F.; COSTA, L. F.; OLIVEIRA, A. M.; FONSECA, C. A. Incidência do vírus da dengue na região metropolitana de Goiânia. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Suplemento v. 3, n. 2, p. 53-55, 2006.

TIMERMAN, A.; NUNES, E. P.; ANDRADE NETO, J. L.; LUZ, K. G., HAYDEN, R. L. Primeiro painel de atualização em dengue. **Revista Panamericana de infectologia**, v. 11, n. 1, p. 44 – 51, 2009.

TRINDADE, R. C. P.; SILVA, P. P.; Araújo-Júnior, J. X.; Lima, I. S; PAULA, J. E; SANT'ANA, A. E. G. Mortalidade de larvas de *Plutella xylostella* tratadas com extratos etanólicos de *Aspidosperma pyrifolium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1813-1816, dez. 2008a.

TRINDADE, R. C. P.; SANT'ANA, A. E. G.; MICHELETTI, S. M. F. B.; BORN, F. S.; ARAÚJO, M. J. C. Plantas inseticidas ou insetistáticas: Uma alternativa no controle de pragas. **Ciência Agrícola**. v. 9, n. 1, p. 83-89, 2007/2008b.

TRINDADE, R. C. P.; LIMA, I. S.; SANT'ANA, A. E. G.; BROGLIO, S. M. F.; SILVA, P. P. Ação de extratos vegetais sobre *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 3; p. 255-262, 2013.

TOLEDO, K. **Apenas 7,5% da Caatinga está protegida**. Agência FAPESP, 2013. Disponível em: <<http://agencia.fapesp.br/17460>>. Acesso em: 15 de jun. 2014.

TORRES, A. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; MEDEIROS, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no

desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.3, p.447-457, 2006.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, p. 113-128, 2000.

WHITEHEAD, S. S.; FALGOUT, B.; HANLEY, K. A.; BLANEY JR, J. E. Jr.; MARKOFF, L.; MURPHY, B. R. A life, Attenuated Dengue Virus Type 1 Vaccine Candidate with a 30-Nucleotide Deletion in the 3'Untranslated Region Is Highly Attenuated and Immunogenic in Monkeys. **Journal of Virology**, v.77, n.2, p. 1.653-1.657, 2003.

WHO 2006. **Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance**. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1.

WHO 2009. **Dengue and dengue haemorrhagic fever**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>>. Acesso em: 18 de junho, 2014.

WHO. **Global Strategy for dengue prevention and control 2012 – 2020**. Geneva: World Health Organization, 2012.