



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

LAFAYETTE PEREIRA CANDIDO

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE OS DIFERENTES
ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA DE *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(L.1762).**

DISSERTAÇÃO

CAMPINA GRANDE

2011

LAFAYETTE PEREIRA CANDIDO

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE OS DIFERENTES
ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA DE *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(L.1762).**

Dissertação apresentado ao Mestrado em
Ciência e Tecnologia Ambiental (MCTA), na
área de concentração Ciência Ambiental da
Universidade Estadual da Paraíba em
cumprimento aos requisitos necessários
para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: Dr. EDUARDO BARBOSA BESERRA

CAMPINA GRANDE**2011**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

C217b Candido, Lafayette Pereira.
Bioatividade de extratos vegetais sobre os diferentes estágios do ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.1762) [manuscrito] / Lafayette Pereira Candido. – 2011.
108 f. : il. color.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba, 2010.

“Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, Departamento de Biologia”.

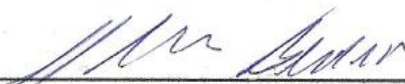
1. *Aedes aegypti*. 2. Dengue. 3. Extratos vegetais. I. Título.

22. ed. CDD 616.921

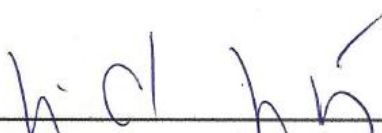
LAFAYETTE PEREIRA CANDIDO**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE OS DIFERENTES
ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA DE *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(L.1762).**

Dissertação apresentado ao Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental (MCTA), na área de concentração Ciência Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba em cumprimento aos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 31 de Janeiro de 2011.

BANCA EXAMINADORA

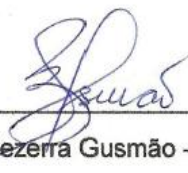
Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra - Orientador



Prof. Dr. Luiz Carlos Serramo Lopes - Examinador externo



Prof. Dr. Jacinto Luna Batista - Examinador externo



Prof. Dr. Maria Avany Bezerra Gusmão - Examinador externo

*Deus por toda força e fé na vitória,
minha mãe Maria do Carmo
Pereira.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força, coragem e perseverança que me concede para enfrentar os obstáculos, através da fé, humildade e companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, pela oportunidade, conhecimento e orientação precisa e pela amizade construída durante 8 anos de convívio acadêmico.

A minha MÃE, por ser a pessoa mais especial na minha vida, que sempre me apoiou em todos os momentos e é indubitavelmente a grande responsável por essa vitória.

A Mônica Maria Cavalcanti, pela orientação e amizade no momento de sufoco.

A todos meus irmãos: Carolina, Anibale, Marinalva, Luizinho e Suzana pelo apoio, incentivo, carinho e torcida para que eu pudesse chegar ao fim de mais uma etapa na vida.

Aos meus colegas do laboratório: Ingridy, Débora, Tatiane, Dairla e Mauricio pelo coleguismo, respeito e dedicação e em especial a Wanessa e Renata por toda contribuição nesse trabalho de pesquisa.

Aos meus amigos da Universidade da turma MCTA: Celina, Wanessa, Simone, Daniela, Kaline, Ellen pela ajuda mútua nos momentos de sufoco, e pela descontração e coleguismo.

A Universidade Estadual da Paraíba e a todo seu corpo docente.

Aos professores do MCTA pelos ensinamentos repassados e experiências compartilhadas.

Ao professor José Pires Dantas pelo material gentilmente cedido.

A Fabiana técnica do laboratório de farmácia pelo conhecimento, paciência e atenção a mim fornecida.

Adriano técnico do laboratório de biologia da UEPB, por toda ajuda a mim fornecida.

A Banca examinadora, por aceitar o convite, para considerações finais na melhoria desse trabalho.

Débora estagiária do laboratório pelo material vegetal, gentilmente, fornecido.

A meus amigos pelos momentos de descontração e apoio nos momentos difíceis, em especial a Advaldo por toda força moral a mim fornecida.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização desse sonho.

Fico

Eternamente

agradecido!!!!

RESUMO

Aedes aegypti é o principal responsável pela transmissão dos vírus da dengue e febre amarela. O desenvolvimento de resistência aos inseticidas sintéticos e sua toxicidade levam à busca de novos métodos como, por exemplo, a utilização de extratos vegetais. Neste sentido, o presente trabalho avaliou os efeitos dos extratos de *Cnidoscopus phyllacanthus*, *Coutarea hexandra* e *Ricinus communis* sobre os diferentes estágios do ciclo de vida do *A. aegypti*. Os testes de bioatividade vegetal foram realizados em sala climatizada a $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas. Utilizaram-se os extratos brutos do caule de *C. phyllacanthus* e *C. hexandra*, concentrados em evaporador rotativo e a semente para obtenção do óleo de *R. communis* e *C. phyllacanthus*. Nos bioensaios foram avaliados os efeitos larvicida, pupicida e adulticida desses produtos em função de diferentes concentrações e do tempo de exposição. O efeito sub letal, ovicida e de repelência de oviposição dos extratos vegetais foi realizado utilizando as concentrações letais do teste larvicida (CL_{50} e CL_{90}). A repelência de superfície impregnada com os produtos vegetais foi feita com as doses de $0,5 \text{ mg/cm}^2$ e 2 mg/cm^2 , no período de 8 horas. Os dados de mortalidade foram submetidos à Análise de Probit para a determinação das (CL_{50} e CL_{90}). As médias referentes à preferência para oviposição em múltipla escolha foram comparadas pelo teste de Friedman ($P < 0,05$) e sem chance de escolha pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Os óleos vegetais de *C. phyllacanthus* e *R. communis* demonstraram maior eficiência no controle larval com $\text{CL}_{50} = 0,55 \text{ ml}$ e $\text{CL}_{90} = 3 \text{ ml}$ e $\text{CL}_{50} = 0,05 \text{ ml}$ e $\text{CL}_{90} = 0,50 \text{ ml}$. No teste com pupas, verificou-se efeito tóxico de todos os produtos com valores significativos das (CL_{50} e CL_{90}) após 24 e 48 horas de exposição. Para o efeito Sub Letal e adulticida as concentrações de *C. phyllacanthus* (óleo) agiram mais efetivamente sobre inseto. Todos os produtos através dos valores IOA demonstraram ação repelente na oviposição de *A. aegypti*, porém, as concentrações dos extratos indicaram pouca atividade ovicida. Os óleos vegetais de *C. phyllacanthus* e *R. communis* demonstraram maior potencialidades no controle dos diferentes estágios do ciclo de vida desse vetor.

Palavras-chave: extratos vegetais, inseticida, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Aedes aegypti, is responsible for the transmission of the viruses of the affection and the yellow fever. The development of resistance to the synthetic insecticides and its toxicity take the search of new methods as, for example, the naturals extract use. The present work evaluated the effect of extracts of *Cnidoscolus phyllacanthus*, *Coutarea hexandra* and *Ricinus communis* on the different periods of training of the cycle of life of *A.aegypti*. The tests of plant aticvidad had been carried through in acclimatized room $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ and fotofase of 12 hours. One used rude extracts of trunk of *C. phyllacanthus* and *C. hexandra*, concentrated in rotating evaporator and the seed for attainment of the oil of *R. communis*. In the bioassays the effect had been evaluated larvicide, pupicide and adulticide of these products in function of different concentrations and the time of exposition. Lethal, ovicidal the effect sub and of repellency of oviposição of vegetal extracts was carried through using the lethal concentrations of the larvicide test (CL_{50} and CL_{90}). The repellency of surface impregnated with the vegetal products was carried through using the dose of $0,5\text{mg}/\text{cm}^2$ and $2\text{mg}/\text{cm}^2$, in the period of 8 hours. The mortality data had been submitted to the Analysis of Probit for the determination of (CL_{50} and CL_{90}). Mean values for the preference for oviposition in multiple choice were compared by Friedman test ($P < 0.05$) and no-choice by Kruskal-Wallis ($P < 0.05$). Vegetable oils of *C. phyllacanthus* and *R. communis* showed a greater efficiency in controlling larval $\text{CL}_{50} = 0.55$ ml and $\text{CL}_{90} = 3$ ml and $\text{CL}_{50} = 0.05$ ml and $\text{CL}_{90} = 0.50$ ml more promising. In the test with pupae, it was found toxic effect of all products containing significant amounts of (CL_{50} and CL_{90}) after 24 and 48 hours of exposure. To this end sub-lethal concentrations of adulticide and *C. phyllacanthus* (oil) acted more effectively on the insect. All products through the IOA values showed repellent action on oviposition of *A. aegypti*, however, the concentrations of the extracts showed little ovicidal activity. Vegetable oils of *C. phyllacanthus* and *R. communis* showed more potential in controlling the different stages of the life cycle of this vector.

Keywords: plant extracts, insecticidal, *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1: Ciclo biológico de <i>Aedes aegypti</i>	25
FIGURA 2: Casos notificados de dengue na Paraíba	29
FIGURA 3: Distribuição de folhas, acúleos, flores e frutos, ao longo dos ramos terminais da faveleira. a-ramo,b-folha.	36
FIGURA 4: Distribuição espacial da faveleira no nordeste.	37
FIGURA 5: Ramos foliares e frutos de <i>Ricinus communis</i> .	39
FIGURA 6: Sementes de <i>Ricinus communis</i> .	40
FIGURA 7: Aspectos botânicos de <i>Couterea hexandra</i> . Em (A), Inflorescência, em (B), planta adulta e em (C), folha e tecido caulinar.	43
FIGURA 8: Complexo de laboratórios três Maria, UEPB.	45
FIGURA 9: Armadilha para coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> em campo.	46
FIGURA 10: Sala de criação de adultos de <i>Aedes aegypti</i> .	47
FIGURA 11: Sala de desenvolvimento larval.	48

- FIGURA 12:** Gaiola de criação de adultos de *Aedes aegypti* (A), e substrato de oviposição (B). 49
- FIGURA 13:** Percolador para extração a frio (A), e evaporador rotativo (B). 50
- FIGURA 14:** Avaliação da atividade larvicida de *Aedes aegypti*. 51
- FIGURA 15:** Ilustração esquemática do desenho experimental do bioensaio da atividade larvicida e pupicida utilizado para os extratos vegetais: *Ricinus communis*, *Cnidocolus phyllacanthus* e *Coutarea hexandra*. 52
- FIGURA 16:** Bioensaio para avaliar o efeito Sub Letal das CL₅₀ e CL₉₀ de *Cnidocolus phyllacanthus* e *Ricinus communis*, sobre desenvolvimento biológico de *Aedes aegypti*. 53
- FIGURA 17:** Ensaio experimental do efeito do TWEEN 20 sobre as larvas de *Aedes aegypti*. 54
- FIGURA 18:** Teste para verificar a atividade adulticida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*. Em (A), os tratamentos, em (B), os insetos adultos expostos as soluções e em (C), o papel filtro com o produto vegetal. 55
- FIGURA 19:** Teste de preferência de oviposição de oviposição de *Aedes aegypti*. Em (A) número de repetições, em (B) número de tratamentos por repetição e (C) os tratamentos. 57
- FIGURA 20:** Teste sem preferência de escolha para oviposição de *Aedes aegypti*. 58
- FIGURA 21:** Teste para verificação do efeito ovicida dos extratos vegetais sobre o *Aedes aegypti*. 59

- FIGURA 22:** Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 24 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti*. 64
- FIGURA 23:** Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 48 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti*. 65
- FIGURA 24:** Ilustração gráfica da atividade larvicida dos produtos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 100 larvas. Desvio padrão (σ)=5%. 66
- FIGURA 25:** Ilustração gráfica da atividade larvicida dos produtos vegetais em função da concentração após 48 horas. Para cada tratamento havia 100 larvas. Desvio padrão (σ)=5%. 66
- FIGURA 26:** Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 24 horas de exposição das pupas de *Aedes aegypti*. 71
- FIGURA 27:** Ilustração gráfica da atividade pupicida dos produtos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 100 pupas. Desvio padrão (σ)=5%. 72
- FIGURA 28:** Ilustração gráfica da atividade pupicida dos produtos vegetais em função da concentração após 48 horas. Para cada tratamento havia 100 pupas. Desvio padrão (σ)=5%. 74
- FIGURA 29:** Ilustração gráfica da atividade adulticida dos óleos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 30 adultos de *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%. 80

- FIGURA 30:** Ilustração gráfica da atividade adulticida dos extratos brutos em função da concentração. Para cada tratamento havia 30 adultos de *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%. 80
- FIGURA 31:** Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Ricinus communis* em testes com múltipla escolha. Desvio padrão (σ)=5%. 83
- FIGURA 32:** Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Cnidoscopus phyllacanthus* em testes com múltipla escolha. Desvio padrão (σ)=5%. 84
- FIGURA 33:** Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Ricinus communis* em testes sem chance de escolha. Desvio padrão (σ)=5%. 87
- FIGURA 34:** Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações letais de *Cnidoscopus phyllacanthus* (óleo) em teste sem chance de escolha. Desvio padrão (σ)=5%. 88
- FIGURA 35:** Período de atividade ovicida de *Ricinus communis* sobre o *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%. 90
- FIGURA 36:** Período de atividade ovicida de *Cnidoscopus phyllacanthus* sobre o *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ) =5%. 91
- FIGURA 37:** Período de atividade ovicida do controle TWEEN 20 e da testemunha (água) sobre *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%. 91

LISTA DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1: Composição química do óleo de mamona.	41
TABELA 2: Análise do efeito larvicida dos extratos vegetais de <i>Cnidoscopus phyllacanthus</i> , <i>Ricinus communis</i> e <i>Couterea hexandra</i> com suas respectivas concentrações letais (CL), intervalos de confiança (95%), qui-quadrado (x^2), e coeficiente angular (Slope) após leitura de 24 e 48 horas de exposição das larvas de <i>A. aegypti</i> aos produtos vegetais .	61
TABELA 3: Análise do efeito pupicida dos extratos vegetais de <i>Cnidoscopus phyllacanthus</i> , <i>Ricinus communis</i> e <i>Couterea hexandra</i> com suas respectivas concentrações letais (CL), intervalo de confiança (95%), qui-quadrado (x^2), e coeficiente angular (Slope) após leitura de 24 e 48 horas de exposição das larvas de <i>Aedes aegypti</i> aos produtos vegetais .	68
TABELA 4: Tempo de duração dos experimentos do efeito Sub Letal dos óleos vegetais de <i>Cnidoscopus phyllacanthus</i> e <i>Ricinus communis</i> , nas concentrações letais CL ₅₀ e CL ₉₀ , apresentando o percentual das mortalidades larval, pupas, emergência de adultos, e mortalidade de adultos de <i>A. aegypti</i> . Em cada tratamento havia 120 larvas L ₃ desse vetor.	75
TABELA 5: Análise de Probit da calibração do TWEEN 20, para averigua ação larvicida.	79

TABELA 6: Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos extratos vegetais com múltipla escolha, através do teste de Friedman $\alpha=0,05$, com respectivos qui-quadrado(x^2), grau de liberdade (g.l), médias individuais e IOA.

85

TABELA 7: Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos extratos vegetais sem chance de escolha, através do teste de Kruskal-Wallis $\alpha=0,05$, com respectivos qui-quadrado(x^2), grau de liberdade (g.l), médias individuais e IOA.

87

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

Lista de figura

Lista de tabelas

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. REVISÃO DE LITERATURA	
21	
3.1 Aspectos históricos de <i>Aedes aegypti</i>.	21
3.2 Bioecologia de <i>Aedes aegypti</i>.	22
3.3 Biologia e Morfologia dos estágios de vida de <i>Aedes aegypti</i>	
(Linnaeus, 1762).	24
I-ovo	24
II-Larvas	24
IV-Pupa	26
V-Adulto	26
3.4 Influência antrópica e infestação de <i>Aedes aegypti</i>	26
3.5 Aspectos epidemiológicos	27
3.6 A dengue no estado da Paraíba	28
3.7 Controle químico e resistência	30

3.8	Interações entre plantas e insetos	31
3.9	Substancias vegetais no controle entomológico	32
3.10	Extrato definições e generalidades	34
3.11	Descrições das espécies botânicas utilizadas	35
3.11.1	Aspectos botânicos e fisiológicos de <i>Cnidocolus phyllacanthus</i>	35
3.11.1.1	Locais de ocorrência	37
3.11.1.2	Variedades identificadas	38
3.11.1.3	Constituintes químicos e atividade biológica	38
3.11.2	Aspectos botânicos e fisiológicos de <i>Ricinus communis</i>	39
3.11.2.1	Variedades identificadas	41
3.11.2.2	Constituintes químicos e atividade biológica do óleo <i>Ricinus communis</i>	41
3.11.3	Aspectos gerais de <i>Coutarea hexandra</i>	42
3.11.3.1	Aspectos botânicos de <i>Coutarea hexandra</i>	43
3.11.3.2	Constituintes químicos e atividade biológica do óleo de <i>Coutarea hexandra</i>	44
4. METODOLOGIA		
		45
4.1	Bioensaio de Laboratório	45
4.2	Coletas das populações de <i>Aedes aegypti</i>	
		45
4.3	Metodologia para criação de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório	
		47
4.4	Obtenção e preparo dos extratos vegetais	49
4.5	Atividade larvicida dos extratos vegetais	50
4.6	Atividade pupicida dos extratos vegetais sobre o <i>Aedes aegypti</i>	52

4.7	Efeito Sub Letal	53
4.8	Calibração do TWEEN 20	54
4.9	Teste para verificação da atividade adulticida dos extratos vegetais sobre <i>Aedes aegypti</i>	54
4.10	Efeito de repelência dos extratos de <i>Cnidocolus phyllacanthus</i> (óleo) e <i>Ricinus communis</i> sobre substrato de oviposição de <i>Aedes aegypti</i>	56
4.10.1	Teste de múltipla escolha	
	56	
4.10.2	Teste sem chance de escolha	58
4.11	Efeito ovicida dos extratos vegetais	59
4.12	Análise dos dados	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO		61
5.1	Bioensaios	61
5.2	Atividade larvicida dos extratos vegetais sobre <i>Aedes aegypti</i> .	61
5.3	Atividade pupicida dos extratos vegetais sobre <i>Aedes aegypti</i> .	68
5.4	Efeito Sub Letal	
	75	
5.5	Calibração do TWEEN 20	
	78	
5.6	Efeito adulticida dos extratos vegetais sobre <i>Aedes aegypti</i> .	
	79	
5.7	Efeito de repelência de extratos de <i>Ricinus communis</i> e <i>Cnidocolus phyllacanthus</i> (óleo) em fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> sobre substrato de oviposição	82

5.7.1 Atividade de repelência para oviposição de múltipla escolha

82

5.7.2 Atividade de repelência para oviposição sem chance de escolha

86

5.8 Atividade ovicida dos óleos vegetais de *Ricinus communis* e *Cnidocolus phyllacanthus* sobre o *Aedes aegypti*

89

6. CONCLUSÃO

94

7. REFERÊNCIAS

95

INTRODUÇÃO

O *Aedes egypti*, Diptera: Culicidae (Linnaeus, 1762), pode ser encontrado em domicílio humano (ambos os sexos em proporções semelhantes), onde obtém seus alimentos, copulam e desovam (TEIXEIRA, 2003). Sendo um mosquito ubiquista, apresenta alta capacidade de adaptar-se a criadouros artificiais o que permite sua ocupação e expansão e, conseqüentemente, o aparecimento de epidemias de dengue (SILVA et al, 1998). A maior importância epidemiológica desse culicídeo está ligada ao seu papel como transmissor dos vírus da febre amarela e da dengue esta última causou, nos últimos anos, grande preocupação aos agentes de saúde pública (AGRELO, 1996). A infecção por dengue é ocasionada por um dos quatro vírus do gênero Flavivirus, antigenicamente separados nos sorotipos designados como VDen-I, VDen-II, VDen-III e VDen-IV (FORATTINI, 2002). Em áreas endêmicas, essa arbovirose é praticamente inevitável, e não há vacinas necessárias para imunizar a população. Por enquanto, a única maneira de prevenção é pelo controle da proliferação do mosquito (SILVA e SILVA, 1999).

O controle da dengue e de outras espécies de insetos de importância em saúde pública tem sido realizado nas últimas décadas principalmente com inseticidas químicos sintéticos. Neste mesmo período, outros métodos auxiliares foram usados, tais como campanhas que visam o controle de criadouros, controle biológico com o uso de peixes e microorganismo e uso de proteção individual através de repelentes derivados da N, N-dimetil-m-toluamida (DEET). O uso intenso de produtos químicos sintéticos tem exposto muitas populações do mosquito a uma intensa pressão de seleção e, conseqüentemente, a predominância de populações resistentes a alguns produtos utilizados no controle desse vetor (TEIXEIRA, 2003).

A íntima relação entre insetos-plantas e sua possível coevolução permitiram aos vegetais o desenvolvimento de estratégias de defesa contra o ataque desses

invertebrados, sendo estas de natureza físicas ou químicas. A defesa química se resume aos componentes secundários que apresentam propriedades repelentes, atrativas ou inseticida, sendo essa última de imensurável relevância para os estudos com bioatividade vegetal.

Em vista das dificuldades operacionais e econômicas geradas pela crescente resistência dos mosquitos aos inseticidas sintéticos, os métodos alternativos ganharam novo impulso e passaram a merecer maior atenção (WHO, 1977). Dentre estes, vem se destacando o desenvolvimento da busca de novos princípios ativos com atividade larvicida e/ou adulticida, atraentes ou repelentes ou ainda capazes de interferir no crescimento do inseto. Vegetais ou produtos deles derivados, tem sido pesquisados por várias décadas com o objetivo de contribuir de forma eficaz para este controle (SUKUMAR, 1991). Candido (2006) identificou o efeito inseticida de *Cnidocolus phyllacanthus* sobre diferentes estádios larvas de *A. aegypti*.

O controle de insetos através de produtos naturais de plantas é coerente com o propósito de manejo ecológico de vetores, pois tais produtos são de baixa toxicidade para o homem e de baixo custo extrativo e operacional. Todavia, apesar do potencial que apresenta, estudos precisam ser realizados para que os princípios ativos dos vegetais sejam efetivamente utilizados para o controle de *A. aegypti*.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Avaliar o efeito inseticida dos extratos de *Cnidocolus phyllacanthus*, *Coutarea hexandra* e *Ricinus communis* sobre os diferentes estágios do ciclo de vida de *Aedes aegypti*.

2.2 Objetivos específicos:

I. Determinar as concentrações letais que causa maior mortalidade em larvas e pupas de *A. aegypti*.

II. Avaliar o efeito Sub Letal das concentrações (CL₅₀ e CL₉₀) dos produtos vegetais sobre o ciclo de vida desse inseto.

III. Observar o efeito do emulsificante TWEEN 20 sobre as larvas de *A. aegypti*.

IV. Avaliar o efeito adulticida dos extratos vegetais sobre os mosquitos de *A. aegypti*.

V. Avaliar atividade de repelência dos extratos vegetais para oviposição de fêmeas de *A. aegypti*.

VI. Verificar a atividade ovicida dos extratos vegetais sobre esse vetor.

REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos históricos de *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti* tem sua origem no continente Africano do qual se disseminou para todo o planeta. Sua expansão pelos trópicos ocorreu durante os séculos XVIII e XIX, como consequência do desenvolvimento marítimo da indústria e do comércio. Tanto o vetor quanto os arbovírus foram dispersos via navegação devido aos mosquitos utilizarem a água armazenadas nos navios como locais para reprodução, mantendo o ciclo de transmissão mesmo em longas viagens. Quando a embarcação aportava, normalmente, os insetos e os vírus eram introduzidos na região. Devido ao modo lento de transporte, epidemias não eram frequentes, ocorrendo com um intervalo de 10 a 40 anos (GLUBLER, 2002).

Os primeiros relatos históricos que mencionam a ocorrência da dengue datam de 1779, na Ilha de Java, e de 1780, na Filadélfia, Estados Unidos. No século XIX há referências de epidemias no Caribe, mas foi no século XX que o *A. aegypti* disseminou a dengue nos continentes americano, africano e asiático provocando epidemias em vários países. A primeira grande epidemia ocorreu em Cuba em 1981 e várias outras epidemias vem se sucedendo em diversos países, com circulação e sobreposição dos diferentes sorotipos, com destaque mais recente para o Brasil, no qual, a situação epidemiológica é alarmante, tendo o *A. aegypti* atingindo quase todos os Estados (MANUAL DE DENGUE, 1996).

No Brasil, o mosquito é conhecido desde o século XVII, instalando-se em diversas regiões sendo hoje responsável por vários ciclos epidêmicos. O primeiro caso da doença foi registrado em Recife, em 1685. No ano de 1692 em Salvador inúmeras pessoas morreram infectadas pelo vírus. Com o extrativismo da madeira a dengue começou a se propagar no Brasil. No século XIX, foram realizadas as primeiras

referências a casos da doença, com surtos ocorrendo no Rio de Janeiro, em 1846 (MORAIS, et al., 2004). Todavia, os sorotipo; VDEN 1 e VDEN 2 causaram a primeira epidemia de dengue com descrição clínica e laboratorial, ocorrida em Boa Vista, Roraima, em 1982. Quando foi reintroduzido no Estado do Rio de Janeiro, em 1986, rapidamente esse sorotipo se disseminou pelo país, tendo sido notificado milhares de casos distribuídos por vários Estados, especialmente, nas regiões Sudeste e Nordeste (VASCONCELOS et al., 1999), levando a dengue a um quadro de endemismo em quase todas as regiões, o que reflete a disseminação deste mosquito em todo território brasileiro (MARCONDES, 2001).

3.2 Bioecologia de *Aedes aegypti*.

A família Culicidea tem como representantes insetos de importância médica, disseminadores de arboviroses e responsáveis por transtornos econômicos em todo o mundo. O *A. aegypti* é considerado o culicídeo mais eficiente na transmissão de várias espécies de arbovírus, principalmente o vírus da dengue (WHO, 1997b). Tanto os machos quanto as fêmeas nesses insetos possuem hábito alimentar diurno, com maior pico entre as 16h e 18h (SILVA et al., 2004). Nos mosquitos adultos, as fêmeas são hematófagas e anautógenas, enquanto os machos se alimentam de substâncias retiradas do floema. No ambiente urbano seus criadouros são representados principalmente por pneus, caixas d'água, latas, vidros, pratos de vasos e xaxins ou mesmo lagos artificiais, piscinas e aquários abandonados, com a condição de que a água armazenada seja limpa e pobre em matéria orgânica em decomposição. Contudo Silva et al. (1999) demonstraram que o *A. aegypti* também se desenvolve em água poluída. Nesse caso, a oviposição é feita nas paredes dos recipientes, imediatamente acima da superfície da água, sendo vistos como pequenos pontos escuros. Também pode ser encontrado em recipientes naturais como bromélias, bambús e outros como a carapanaúba, árvore do gênero *Aspidosperma* que armazena a água em uma depressão no tronco (carapanã-mosquito e uba-árvore) (TEIXEIRA, 2003).

O número de insetos adultos é diretamente influenciado pelas chuvas, embora possa ser mantida uma população considerável durante as estações menos chuvosas, devido a presença dos criadouros semipermanentes ou independentes

das chuvas. No Brasil, o *A. aegypti* é o único vetor conhecido de febre amarela urbana e é também o único transmissor da dengue (CONSOLI, 1994).

As fêmeas desse vetor colocam os ovos em qualquer lugar desde que haja umidade. Os ovos são colocados um a um, e assim, cada fêmea pode povoar de 10 a 30 criadouros de cada vez, e, desde que haja umidade suficiente, este embriona em 48 horas (AUGUSTO et al., 2000). *A. aegypti*, mais do que qualquer outra espécie, alimenta-se mais de uma vez entre duas oviposições sucessivas, especialmente quando perturbado antes de estar totalmente ingurgitado. Essa característica aumenta a possibilidade do mosquito ingerir e transmitir o vírus (PASSOS et al., 2003). Sabe-se que o ovo de *A. aegypti* é a forma mais resistente do ciclo biológico e, em trabalhos anteriores, verificou-se que, somando-se a isso esses ovos apresentam diferentes períodos de quiescência. Esta característica é responsável pela manutenção da população de adultos na natureza de forma contínua e flutuante (SILVA et al, 1998). Tais aspectos tornaram a dengue cada vez mais frequente, inclusive com a ocorrência de um “mosaico epidêmico”, onde se verifica a participação simultânea dos vários tipos de vírus (TEIXEIRA, 2003).

A água potável por definição não é o criadouro ideal, pois a larva precisa de bactérias para se alimentar (AUGUSTO et al., 2000). Os estágios larvais e pupais se encontram em uma grande diversidade de habitats, desde grandes extensões de corpos d'águas, até pequenos coletores (ORIA ; STEIN e GORODNER, 2000). Segundo Braga et al. (2000) este inseto deposita seus ovos preferencialmente em artefatos de cor escura. No ambiente urbano, como substratos de oviposição se utiliza de recipientes artificiais (latas, pneus, jarros, caixa d'água e entre outros) encontrados em abundância, o que explica a proliferação desses mosquitos neste ambientes, e que têm merecido atenção da vigilância epidemiológica (HONÓRIO e OLIVEIRA, 2001).

O ciclo gonotrófico neste mosquito, teoricamente se completa em dois ou três dias em condições ambientais favoráveis. Após o repasto sanguíneo, inicia-se a maturação dos ovos, ou seja, a embriogênese. A oviposição ocorre nesse período e é subsequente ao repasto sanguíneo, (BARATA et al., 2001). Como o *A. aegypti* é um mosquito anautógeno, a maturação ovarial completa está necessariamente relacionada a digestão de um ou mais repastos sanguíneo. Não havendo completa ingestão de sangue, o desenvolvimento dos oócistos não passará dos primeiros estágios. Após embrionado, se o ambiente resseca, esses podem ficar até 18 meses

em estivação e aí, na presença de água, eles eclodem em duas a três horas, e as larvas em uma semana atingem a fase adulta. No caso dos machos, que se alimentam de seiva, também há a presença do vírus, contudo, a transmissão é transovariana, ou seja, de mosquito para mosquito (AUGUSTO e CÂMARA NETO, 2003).

3.3 Biologia e Morfologia dos estágios de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762).

O *A. aegypti* apresenta metamorfose completa (holometábolo), com o ciclo de vida composto por quatro fases: ovo, larva (1^o a 4^o instar), pupa e adulto, esse ultimo com dimorfismo sexual. O ovo, a larva e a pupa pertencem ao mesmo ecótopo, pois são as fases aquáticas do ciclo de vida desse díptero (FIG. 1).

I-Ovo

Os ovos de *A. aegypti* são elípticos, alongados e fusiformes com aproximadamente 1mm de comprimento. No momento da postura são de coloração branca, no entanto, adquirem coloração enegrecida e tonalidade brilhante após algumas horas.

A oviposição é realizada nos mais diversos substratos e o número de posturas está diretamente relacionado com a quantidade de sangue ingerido, onde 3,5 mg é quantia suficiente para considerar o repasto como completo e ideal para o desenvolvimento ovariano. Sob esse aspecto uma fêmea produz cerca de 120 ovos por postura. Em condições favoráveis de temperatura e umidade o embrião está apto a eclodir por volta de 4 a 7 dias (CONSOLI e OLIVEIRA,1994).

II- Larvas

Morfologicamente, as larvas são alongadas, vermiformes, esbranquiçadas. Imaginariamente, o corpo está dividido em cabeça, tórax e abdome. A cabeça possui um par de antenas, olhos compostos e alguns ocelos o aparelho bucal é mastigador-raspador. O Tórax é globoso, mais largo que a cabeça com segmentos fundidos e

revestidos por cerdas. No oitavo e último segmento localizar-se o sifão respiratório: curto, grosso e escuro (LOZOVEI, 2001). Habitam os mais diversos ecossistemas aquáticos, desde pântanos a recipientes antrópicos. Dessa forma, habitam quaisquer locais que possam acumular água podendo enfrentar as mudanças rápidas de salinidade. De vida livre, alimentam-se de partículas orgânicas presentes na água, alguns tipos de algas, sendo a filtração a forma mais comum de alimentação podendo filtrar dois litros de água por dia (ACIOLE, 2009).

O estágio larval está subdividido em quatro instares (L_1, L_2, L_3, L_4). O primeiro instar (L_1) rompe o ovo através de um dente quitinoso, exclusivo dessa fase larval. A durabilidade depende de fatores, tais como temperatura da água, densidade populacional no criadouro e disponibilidade de alimento. O quarto instar (L_4), estando na sua fase final de desenvolvimento, cessa a alimentação, em virtude da sua metamorfose ao próximo estágio de vida, pupa, o qual não se alimenta mais (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

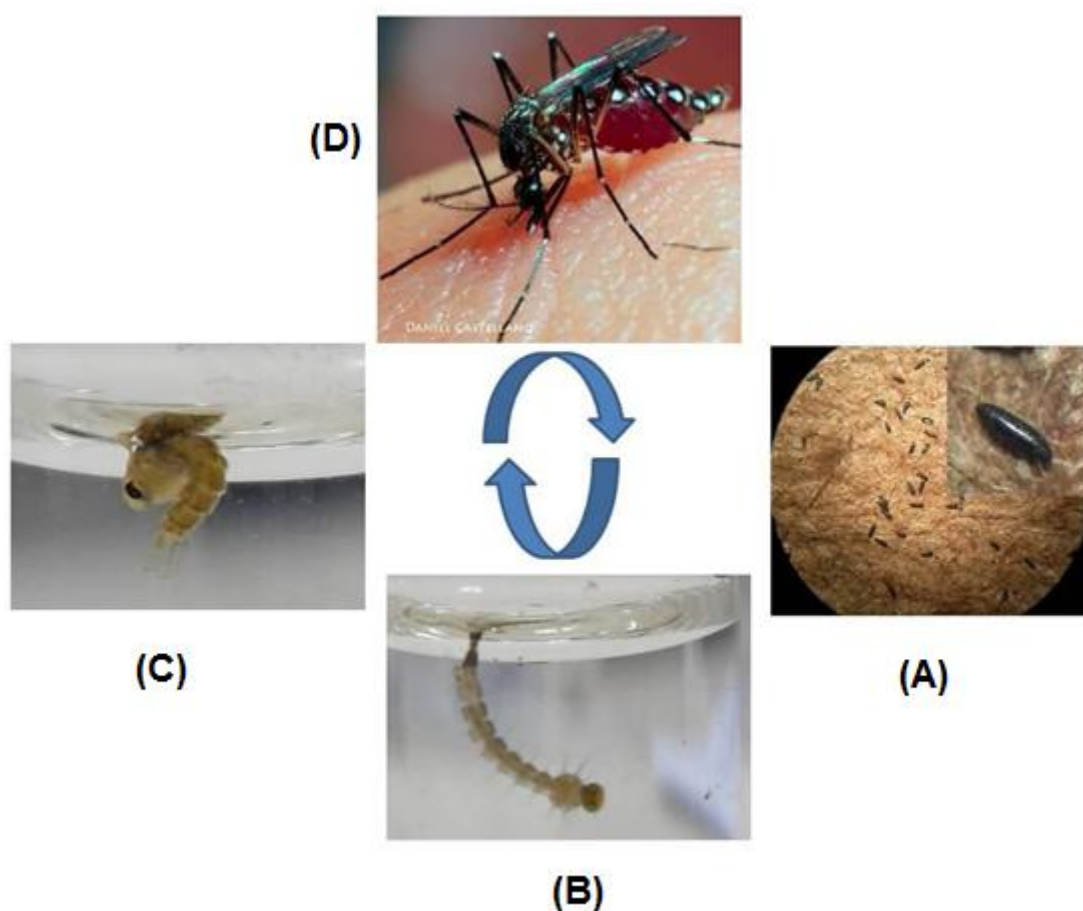


FIGURA 1. Ciclo biológico de *Aedes aegypti*. Após a oviposição (A), nas paredes dos recipientes, as larvas (B), eclodem e passam por quatro estágios, transformam-se em pupas (C), e destas ocorrem à emergência do adulto (D).

III- Pupa

Esse estágio do ciclo de vida de *A. aegypti* representa a transição entre o meio aquático para o terrestre. Tem o aspecto de “vírgula” em virtude de a cabeça unir ao tórax, formando o cefalotórax. Devido seu metabolismo se apresenta de forma mais lenta, normalmente, fica parada na superfície da água até ocorrer a metamorfose para o indivíduo adulto. No entanto, quando estimulada, move-se com bastante agilidade. De coloração esbranquiçada, semelhante à larva, porém, à medida que se a próxima da transformação em adulto, adquire coloração escura. Nesta fase a respiração ocorre através de trombetas localizadas no cefalotórax que atravessam a superfície da água (FORATTINI, 2002).

IV- Adulto

Os adultos medem cerca de 3 a 6 mm de comprimento. Seu corpo apresenta coloração escura com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais e um desenho em forma de lira no mesonoto (*A. aegypti*). Possuem um par de antenas que nos machos é plumosa, com palpos mais longos, e nas fêmeas é pilosa. As fêmeas apresentam o aparelho bucal picador, sendo hematófagas obrigatórias, embora também se alimentem de seiva de plantas, enquanto os machos possuem aparelho bucal do tipo sifonador-picador (ACIOLE, 2009).

3.4 Influência antrópica e infestação de *Aedes aegypti*

Os mosquitos de importância médica-sanitária têm seu crescimento populacional diretamente influenciado por fatores ambientais, que são maximizados pela ação humana. A presença da dengue resulta de um conjunto de fatores proporcionados

pelo comportamento social humano, como, por exemplo, o processo de urbanização e modo de vida da população. Outro fator determinante na dispersão desse vetor está relacionado ao progresso nos meios de transporte, que favorece a migração e amplificação de sua área alimentar, além da carência no abastecimento de água encanada, forçando muitos habitantes a armazenar o líquido nos domicílios, proporcionando assim criadouros para a infestação do mosquito (MEDEIROS, 2007).

A falta de infra-estrutura dos grandes centros urbanos como consequência do crescimento acelerado contribui também de forma significativa para o aumento no número de casos de dengue (SOARES; MELO e GARLADO, 2001). Indispensável citar que a industrialização é a grande responsável pelos altos índices larvários, já que os novos produtos descartáveis por ela produzidos tais como copos, garrafas, latas e baldes, entre outros, são eliminados de forma incorreta pela população e acabam por transformar-se em prováveis focos para a multiplicação desse vetor (HONÓRIO e OLIVEIRA, 2001). Áreas com maior concentração populacional e nível sócio econômico baixo apresentam condições mais favoráveis a proliferação do vetor, isto fortalece a idéia de que o *A. aegypti* está diretamente ligado as condições de vida humana (BARATA et al, 2001).

3.5 Aspectos epidemiológicos

Do ponto de vista epidemiológico, a dengue caracteriza-se como uma doença infecciosa causada por um arbovírus do gênero *Flavivirus*, que pertence à família Flaviviridae, antigenicamente separados nos sorotipos designados por VDEN I, VDEN II, VDEN III e VDEN IV. Deve-se ressaltar que a infecção com um desses vírus, não significa imunidade cruzada para os demais, de forma que uma população que habita uma determinada região endêmica pode ser submetida a surtos dos quatro sorotipos da dengue (FORATTINI, 2002). Há dois tipos de dengue: a clássica e a hemorrágica. Geralmente, quando acometida pela primeira vez, a pessoa contrai a dengue clássica. Em uma segunda exposição, existe um risco muito maior de se contrair a dengue hemorrágica, a qual pode levar a morte (MORAIS et al., 2004). Epidemias da doença têm ocorrido em quase todos os Estados do Brasil. A circulação simultânea do sorotipo um (DEN-1) e do sorotipo dois (DEN-2) e também

do sorotipo três (DEN-3), aumenta o risco de epidemias por febre hemorrágica da dengue (IESUS, 2002).

O caráter adaptativo do *A. aegypti* ao meio urbano justifica a sobrevida de surtos de dengue que atingem as populações desses ambientes de aglomeração humanas (FORATTINI, 2002). A migração de pessoas de cidade com grande concentração humana para lugares com pouca densidade populacional é o fator responsável pela disseminação dos quatro sorotipos da dengue, e conseqüentemente, maiores casos de epidemias (VASCONCELOS et al., 1999).

A transmissão se faz pela picada do mosquito fêmea infectado, no ciclo homem-*A. aegypti*-homem. Não há transmissão por contato direto de doente ou de secreções com uma pessoa sadia, nem através de fontes de água ou alimento (MANUAL DE DENGUE, 1996). Nem um animal tem sido associado como hospedeiro secundário, visto que a sorologia realizada com materiais colhidos desses animais tem apresentado resultados consistentemente negativos, o que tem afastado essa possibilidade (MORAIS et al., 2004).

3.6 A dengue no Estado da Paraíba.

O número de casos de dengue nos cinco continentes é alarmante, estima-se de 50 a 100 milhões por ano de infectados por esta arbovirose em todo mundo (NOGUEIRA, 2005). No estado Paraíba, em junho de 2008, foram registrados 8.543 casos de dengue, deste total 30 registros foram de dengue hemorrágica com três óbitos. Em 2009, a Secretaria de Estado da Saúde da Paraíba, registrou em junho 642 casos de dengue, sendo que desse total um evoluiu para óbito. Em 2010, esse órgão registrou, até a 30ª semana epidemiológica, que corresponde ao período de 03 de janeiro a 31 de julho, 4.305 casos suspeitos de dengue. Destes, 2.303 (53,5%) foram confirmados, sendo 863 (37,48%) por critério laboratorial e 1.440 (62,53%) por critério clínico epidemiológico. Observa-se que neste período foram confirmados 1.681 casos de dengue *a mais* que no mesmo período de 2009, representando um aumento de 270,3 % (FIG. 2).

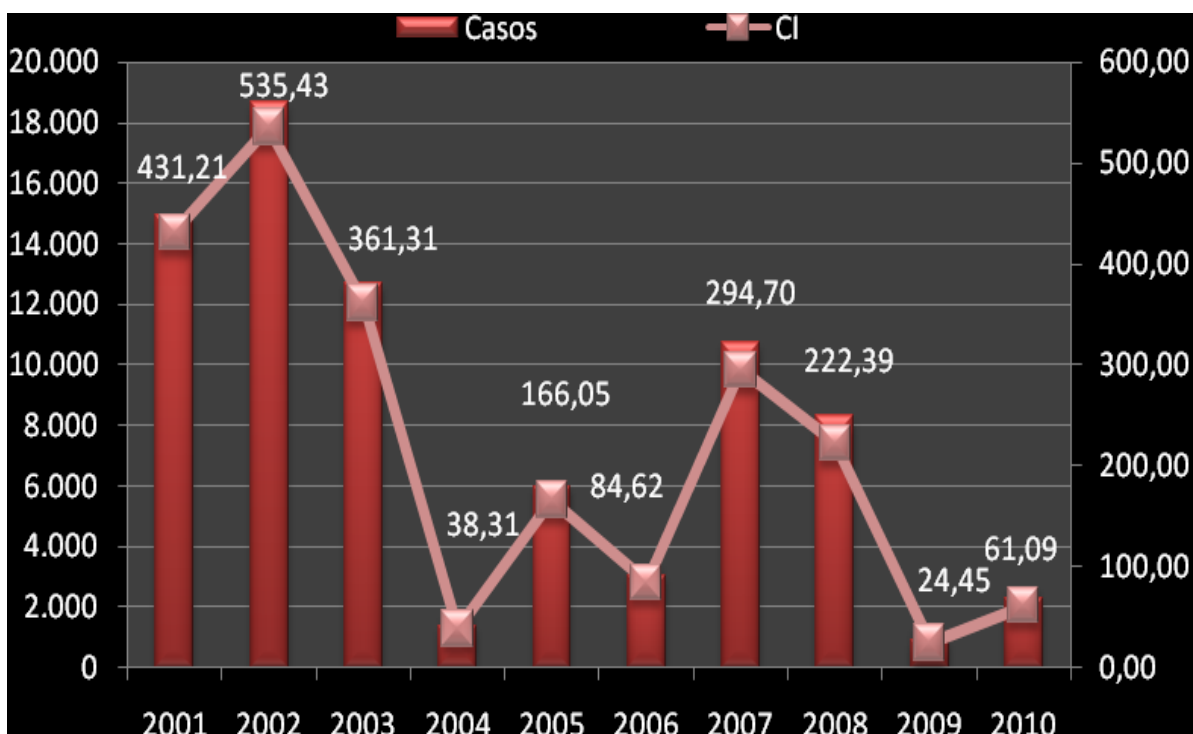


FIGURA 2 Casos notificados de dengue na Paraíba, 2001 a 2010

Fonte: Boletim Epidemiológico da Dengue, (2010).

Entre os municípios avaliados os que apresentaram maior número de casos notificados no ano de 2010 foram: João Pessoa, 442 casos, Uiraúna, 255 casos, Catolé do Rocha com 239, Brejo dos Santos, 170 casos, Campina Grande, 105 casos, Bom sucesso e São José de Piranhas com 95 casos, Cabedelo com 94 casos, Píripituba com 94 casos e Manaíra com 68 casos. Neste mesmo período foram notificados 18 casos de Febre Hemorrágica da Dengue - FHD, 01 localizado no município de Areal, 01 em Campina Grande, 02 em Brejo dos Santos, 07 em João Pessoa, 01 em Paulista, 03 em Cabedelo, 02 em São José de Espinharas e 01 em Catolé do Rocha. Dois óbitos foram registrados no município de João Pessoa, 01 em Areal e 01 em Campina Grande (BOLETIM EPIDEMIOLOGICO DA DENGUE, 2010).

O Estado da Paraíba assim como os demais estados Brasileiros apresentam todos os anos surtos de dengue, apesar da significativa redução no número de infestação por esse inseto (FIG. 2). Evidente a resurgência de novos casos o que pode inferir uma redução da eficiência dos métodos usuais de controle desse vetor. Dessa

forma, é categórico e urgente à necessidade contínua de programas que gerem informações que possam dar suporte aos agentes de saúde para o controle de *A. aegypti*.

3.7 Controle químico e resistência

Nas últimas décadas o controle desse vetor tem sido realizado através de inseticidas sintéticos. Os insetos sob tratamento intenso dessas substâncias passaram a ser relutantes, tornando-se necessário o aumento das doses e, conseqüentemente, o aumento da resistência. O Brasil por mais de 30 anos e ainda hoje utiliza os organofosforados temephos no controle de larvas de *A. aegypti*. Com as epidemias de 1986, seu uso foi amplamente intensificado. Em pouco tempo casos de resistência de *A. aegypti* ao Temephos vem sendo relatada em diversas localidades brasileiras, como por exemplo, o município de Campinas-SP (CAMPOS e ANDRADE, 2001), do Distrito Federal (CARVALHO et al. 2004), do Estado do Ceará (LIMA et al. 2006) e da Paraíba (BESERRA et al. 2007).

A existência de vetores resistentes a um determinado produto químico pode ocorrer como resultado de fatores genéticos e operacionais. A resistência é uma característica genética que se insere em uma população em função do uso de inseticidas. A capacidade dos insetos de tolerar concentrações inicialmente letais promove uma redução gradual na eficácia dos inseticidas, até sua completa ineficiência. Os principais problemas quando ocorre suspeita de resistência são o emprego de maiores concentrações ou quantidade do composto, na tentativa de recuperar sua eficácia e o aumento da frequência de aplicação e substituição do produto. Essas ações além de serem ecologicamente negativas, não são eficientes no controle da expansão territorial dos insetos vetores (BARRETO, 2005).

Uma questão ainda mais séria refere-se ao impacto ambiental. Devido a existência de populações do mosquito resistente ao produto, um número maior de aplicações são utilizadas de forma irracional, de modo que, cada vez mais quantidades dessas substâncias colocadas na natureza causam grandes estragos. Logo, a continua utilização do controle químico no combate a insetos vetores pode interferir no equilíbrio do meio ambiente mediante a possibilidade de sua ação não

está restrita apenas a espécie alvo podendo eliminar insetos benéficos, além da contaminação do solo, água e atmosfera (D'AMATO et al,2002 ; BARRETO,2005).

Outro fator indispensável de ser citado refere-se aos seus efeitos adversos ao organismo humano que de acordo com a dose e das condições aos quais os indivíduos são expostos podem causar problemas de saúde pública. Um bom exemplo disto foi o uso do DDT (diclorodifeniltricloroetano), um inseticida do grupo dos organoclorados, utilizado com grande sucesso a partir dos anos 40 no combate ao mosquito vetor da malária e em pragas agrícolas. Durante décadas o produto foi largamente usado no país até ser comprovado seu efeito cancerígeno e seu extenso tempo de degradação, entre 4 e 30 anos (BARRETO, 2005). Em vista disso, a busca por métodos alternativos de controle desse vetor é coerente com o propósito de redução da infestação de *A. aegypti*, sendo os inseticidas botânicos uma opção econômica e ecologicamente viável.

3.8 Interações entre plantas e insetos

Atualmente reconhece-se que a relação entre insetos e plantas tem uma importância crucial para o conhecimento fundamental da biodiversidade terrestre (SCHOONHOVEN, et al., 1998 apud HOLTZ et al 2004). As plantas e insetos representam dois dos maiores percentuais de organismo vivo, tanto em número de espécies quanto em biomassa total. A biomassa de todos os insetos na Amazônia brasileira, por exemplo, supera a de todos os vertebrados terrestre em pelo menos nove vezes (HOLDEN, 1989).

As plantas e os insetos estão unidos por intrincados relacionamentos, a vida animal, incluindo os insetos, não poderia existir na ausência dos vegetais, que serve de fonte primária de energia, além, de ser rico em compostos essenciais para os organismos heterotróficos. Por outro lado a exposição das plantas a um número extremamente grande de predadores supostamente tem sido uma das principais causas do desenvolvimento da imensa diversidade de vegetais no mundo (SCHOONHOVEN et al., 2005).

Os insetos são uns dos inimigos mais comuns dos vegetais apesar de alguns serem polinizadores fundamentais de várias espécies de plantas. Eles parasitam e destroem grandes plantações. Por essa razão, as plantas desenvolveram

mecanismos para coabitar com estes artrópodes. Contra os insetos, as plantas desenvolveram dois tipos de defesa, a direta e a indireta. Na defesa direta estão envolvidos substâncias como sílica, metabólitos secundários, enzimas e proteínas, além de órgãos como tricomas e espinhos que afetam diretamente a performance do inseto. Na defesa indireta estão envolvidas substâncias emitidas pela planta, que atraem parasitas e predadores do inseto fitófago. Terpenos e fenilpropanóides, voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedades atrativas (alimentação, polinização) ou inseticidas (SIMAS et al., 2004).

3.9 Substâncias vegetais no controle entomológico

A utilização de produtos naturais para o controle de insetos, resultantes do metabolismo secundário das plantas, não se trata de uma novidade: os rotenóides, as piretrinas e as nicotinas já foram utilizados no passado pelos índios e romanos com esse fim. Os adventos de técnicas modernas permitem a modificação química dessas substâncias para aumentar sua eficiência e a descoberta de novos princípios ativos que sirvam de ferramenta para o controle populacional desses animais (TEIXEIRA, 2003).

Os inseticidas extraídos de produtos vegetais foram muito utilizados na década de 1940, principalmente o alcalóide nicotina, extraídos da folha de *Nicotiana tabacum* e *Nicotiana glauca* (Solanaceae), associado à nornicotina e anasina. O surgimento dos inseticidas sintéticos, desenvolvidos a partir da II Guerra Mundial, acabaram substituindo por completo os agentes naturais (FERREIRA et al., 2001).

Em todo mundo, a utilização de plantas com fins medicinais são hábitos comuns na cultura popular. Contudo, seu reconhecimento como ferramenta promissora no combate a insetos transmissores de doenças parece ser a grande novidade em vigilância entomológica. Os vegetais, como organismos que coexistem com os insetos e outros microrganismos e que, portanto, desenvolvem mecanismo de defesa contra predadores, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas. São de sua responsabilidade também sintetizar inúmeros compostos voláteis para atrair polinizadores e se defenderem do ataque dos herbívoros. Substâncias extraídas da casca do caule, das folhas e dos frutos de

diversas plantas tem demonstrado propriedades larvicida no controle de diversos culicídeos (SILVA et al, 2004; SIMAS et al, 2004; RODRIGUES et al, 2005)

Apesar das plantas constituem um recurso importante para o controle de pragas e doenças, a maioria dos pesquisadores desconhece esta informação, e qual a importância desse método alternativo no controle de epidemias e pragas agrícolas. Várias substâncias de origem natural são eficazes contra insetos, por maneiras distintas, como inseticidas que afetam os axônios (clorados e piretróides) e sinapses (organofosforados e carbamatos), ou a respiração (rotenóides); ou ainda aquelas que afetam o balanço hormonal: análogos e antagonistas do hormônio juvenil, e ainda, substâncias que afetam o comportamento, podendo ser atrativos ou repelentes (TEIXEIRA, 2003).

O Brasil por apresentar uma biodiversidade incomparável, distribuída em um mosaico de biomas admiravelmente distintos, torna-se um campo de estudo promissor no controle de insetos a partir de componentes químicos extraídos de plantas nativas. Várias espécies de plantas tem sido investigadas e testadas com potencial larvicida para diversas espécies de insetos, incluindo o *Aedes aegypti*, como, por exemplo, *Magonia pubescens* (SILVA et al, 2004); *Atlantia monophylla* (SIVAGNAME e KALYANASUNDARAN, 2004) e *Cybistax antisyphilitica* (RODRIGUES et al, 2005); *Coutarea Hexandra* e *Cnidocolus phyllacanthus* (CANDIDO et al. 2010) demonstraram ser eficientes no controle desse vetor.

O controle com extratos e óleos vegetais da flora nacional tem-se apresentado como uma alternativa promissora, pois vem produzindo bons resultados em condições de laboratórios e em campo. Esses produtos são efetivos no controle entomológico reduzindo as aplicações de inseticidas químicos sintéticos prejudiciais à saúde humana e causadores de desequilíbrios ecológicos (PIMENTA, 2006). Medeiros (2007) avaliou o potencial larvicida de extratos de plantas da caatinga sobre *A. aegypti* e verificou que os produtos de *Aspidosperma pyrifolium* Mart e *Myracrodruon urundeuva* Allemão demonstraram toxicidade relevante sobre as larvas desse inseto. O potencial das plantas no combate ao transmissor da dengue também foi avaliado por Porto et al (2008), que utilizou óleo extraído de folhas de *Anacardium humile* e obteve mortalidade de 100% em larvas de 4° estágio desse vetor após 24 horas de exposição. Em relação aos produtos vegetais utilizados no presente estudo. Peixoto (2003), constatou atividade do extrato de faveleira como

eficiente na remoção do *Neuleucinodes elegantalis*, uma das pragas mais prejudiciais do tomateiro, demonstrando uma eficácia de 53,6%.

Apesar da imensa biodiversidade brasileira pouco se conhece sobre a capacidade terapêutica das plantas. Mesmo o Brasil possuindo o maior banco genético em diversidade vegetal do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas, são poucas as plantas em estudo. A análise fitoinseticida permite inferir um possível controle vetorial com baixo impacto ambiental e baixo custo econômico (BARRETO, 2005).

3.10 Extrato definição e generalidade

A idéia de administrar drogas naturais sob a forma concentrada parece dever-se ao o imperador Chinês Chin-Nong (2700 a.c) e foi praticada em todas as épocas. Os extratos são definidos de acordo com as farmacopéias com preparações farmacêuticas sólidas, obtidas pela a concentração de substâncias medicamentosas por um dissolvente: como a água, álcool, éter, acetona etc. Todavia, foi a partir de 1585, que o emprego dos extratos generalizou-se por toda a Europa, principalmente na Alemanha, através da publicação da obra *Thesaurus Pharmaceuticus* de Gaspar Schwenckfeldt, que indicava dois modos de preparação de extratos: a convencional (sólida) e a galénica (tintura líquida). Este método só se intensificou um século depois , em 1676, na célebre *Royal Galénique et Chimique* de Moyse Charas que acrescentou ideais novas aos conhecimentos tidos sobre os extratos (PRISTA,1986).

Os extratos são preparações galénica que além dos elementos essenciais possuem outros componentes (resinas, pigmentos, gomas, mucilagens e proteínas) que são eliminados a partir do método de substâncias utilizadas na limpeza e concentração dos princípios ativos. A presença dessas substâncias tidas como inconvenientes nas soluções extrativas comprometem a qualidade e a eficiência dos extratos vegetais, pois agem modificando sua estrutura química e física, essencialmente importante para manutenção dos efeitos químicos extrativos (PRISTA, 1986).

Atualmente os extratos vegetais são utilizados nas mais diversas ciências e culturas, a partir de sua passividade em relação ao meio ambiente e eficácia verificada em diversas áreas: médica, agrícola, veterinária, entre outros. Assim, o

homem tornou-se permeável ao conhecimento dos produtos naturais como alternativas no controle entomológico de pragas.

3.11 Descrições das espécies botânicas utilizadas

As espécies vegetais posteriormente descritas são encontradas na flora brasileira e foram testadas a partir do conhecimento literário e popular.

3.11.1 Aspectos Botânicos e fisiológicos de *Cnidoscolus phyllacanthus*

Cnidoscolus phyllacanthus é uma planta que pertence a família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae, gênero *Cnidoscolus*. Esse vegetal pode atingir o porte arbóreo entre 4 e 5 anos, com, aproximadamente, 5 metros de altura, dotada de copa alongada ou arredondada e rala. Sua casca é suberosa e rica em proteínas. Quando inciso flui um líquido leitoso coagulável em contato com o ar atmosférico. Suas raízes são tuberculadas, as flores hermafroditas, brancas e distribuem-se em cachos axilares e terminais (RIBEIRO, 2008).

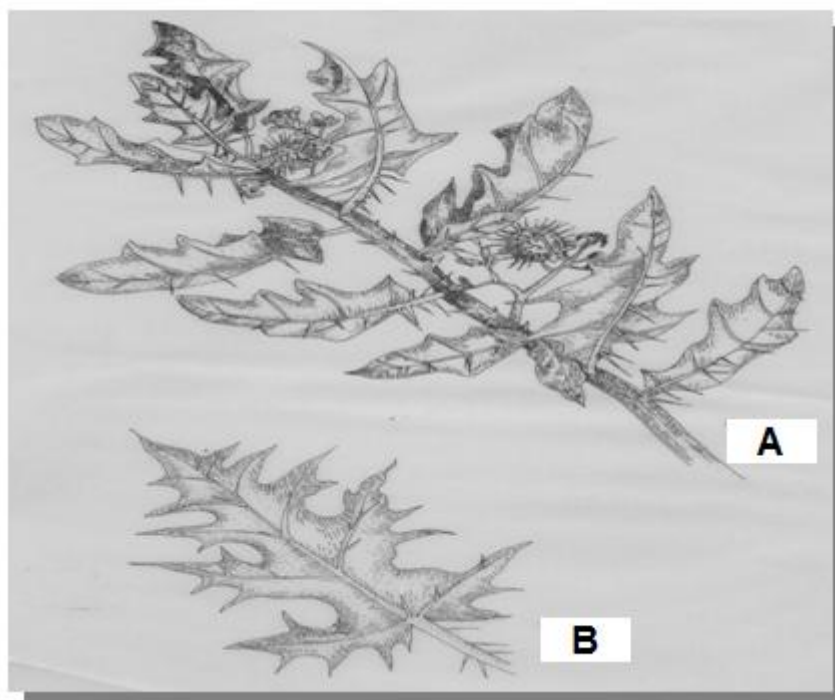


FIGURA 3 – Distribuição de folhas, acúleos, flores e frutos, ao longo dos ramos terminais da faveleira; **A**-Ramo e **B**-Folha. (Fonte: Andrade Lima, 1989).

Folha de forma geral oval, elíptico ovalada, sinuosa e sub-lobada, membranácea, de bordos profundamente lobados, terminados em pequenos espinhos (FIG. 3). Número variável de pêlos urticantes, às vezes simples, às vezes dois unidos na base, chegando a alcançar mais de 1,0 cm de comprimento, de cor alva (Andrade Lima, 1989). Melo (2000), os chama de tricomas urticantes aciculiformes, que medem entre 0,02 – 1,2 cm de comprimento. Santos e Grisi (1976) estudaram a anatomia foliar e constataram que os estômatos são paracíticos e se encontram distribuídos em ambas as faces da folha.

Moreira et al. (1974) estudaram a morfologia floral da faveleira e concluíram existir flores dos dois sexos em uma mesma inflorescência, sendo as masculinas muito mais numerosas do que as femininas, distinguindo-se estas, daquelas, pela forma e pela posição que ocupam na inflorescência. As flores femininas são sempre encontradas em posição axilar e as masculinas tanto nas posições axilares como nas terminais, além da diferença encontrada entre a distribuição das pétalas em ambos os gêneros.

Duque (1951, 1980a), constatou que a floração ocorre nos meses de janeiro e fevereiro e os frutos estão maduros entre maio e junho. Segundo Bezerra (1972), a maturação dos frutos ocorre no fim da estação chuvosa e Oliveira (1976) diz que o florescimento se dá nessa estação, frutificando até o seu final; eles são deiscentes e cada um contém, em média, 3 sementes (BRAGA, 1960; BEZERRA, 1972; OLIVEIRA, 1976; CANDEIA, 2005), sendo elas semelhantes às da mamona (*Ricinus communis*), diferindo destas na cor, que é mais escura e possui um achatamento numa das extremidades

A faveleira se destaca no meio das outras plantas da caatinga pela sua extraordinária resistência à seca. Além da queda das folhas, diminuição da superfície foliar, proteção dos estômatos com pêlos contra o excesso de evaporação e abundância de súber, há, ainda, outro meio mais eficaz da faveleira conviver com a seca: é o armazenamento de reserva alimentícia, no caule e nas raízes, para a sua sobrevivência no período seco, permitindo o aparecimento de novas folhas, flores e frutos (Duque, 1980a).

3.11.1.1 Locais de ocorrência.

Luetzelburg (1923) encontrou a faveleira vegetando nas terras do Sertão do Seridó e em menor proporção na Caatinga baixa. Na Paraíba, registrou a ocorrência na Serra da Catingueira, Cajazeiras, Soledade e Taperoá.

Santa Rosa (1943) fez um levantamento de ocorrência dessa planta em todo o Nordeste, entrevistando os prefeitos de algumas cidades e com isso conseguiu elaborar um mapa provisório e, segundo o autor, incompleto (FIG. 4). Avaliou também o número da espécie em alguns municípios da Paraíba, entre eles:

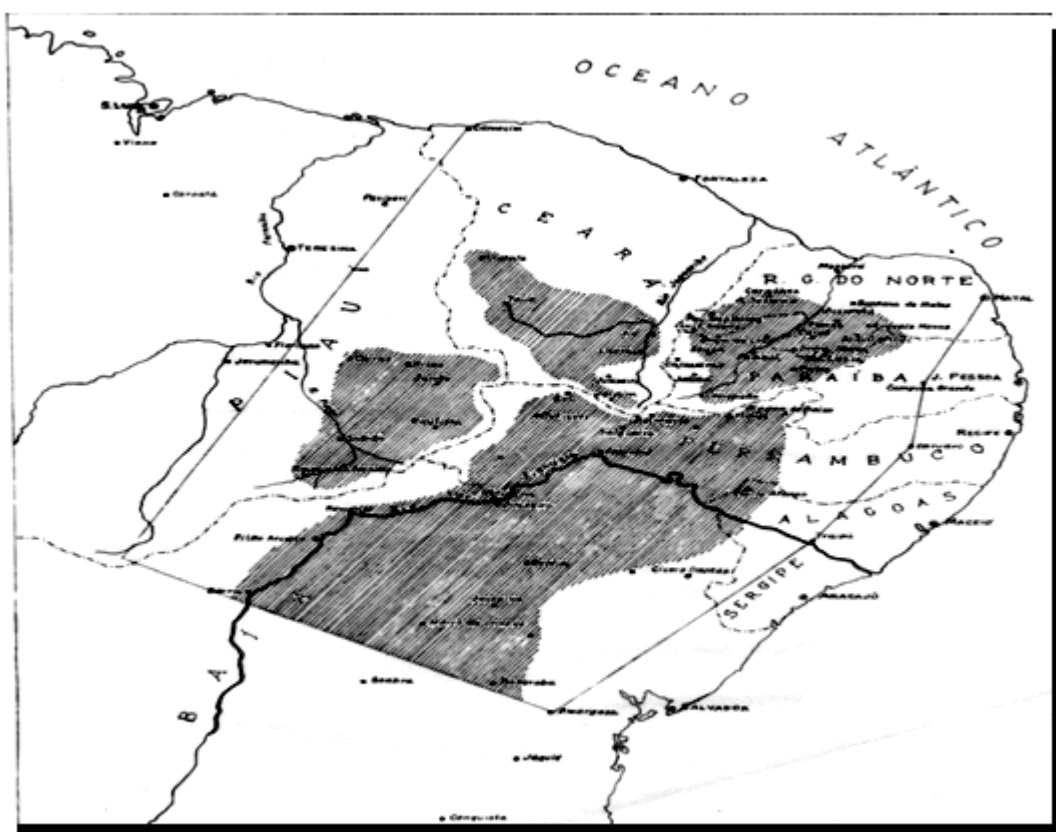


FIGURA 4 – Distribuição espacial da faveleira no Nordeste.

Fonte: Santa Rosa, 1943).

- Brejo do Cruz – muitas, milhares de plantas;
- Cajazeiras – não existe;

- Conceição – poucas;
- Jatobá – poucas, alguns exemplares;
- Patos – muitas;
- Piancó – poucas;
- Picuí – muitas, no mínimo, milhares de plantas;
- Pombal - muitas;
- Sousa – muitas

No seu trabalho utilizou-se como critério muitas – mais de 500 plantas e poucas, no máximo 500 plantas no município.

3.11.1.2 Variedades identificadas

Até o momento, as descrições botânicas inerentes à faveleira têm constatado a existência de uma única variedade, dotada de espinhos. No entanto, alguns estudos já relatam a existência de uma “mutante”, que é a faveleira sem espinho. A ocorrência dessa variedade foi registrada pela primeira vez no município de Independência, no Ceará. Por se tratar de uma planta resistente à seca e de fácil manejo, Viana e Carneiro (1991) avaliaram o seu potencial forrageiro, e Silva et al., (1998) estudaram a aceitabilidade de espécies lenhosas do Semi-árido paraibano, na alimentação de ovinos, e dentre elas estava a faveleira sem espinhos.

3.11.1.3 Constituintes químicos e atividade biológica

A faveleira, espécie endêmica do Brasil, faz parte do ecossistema da caatinga. Sua estrutura vegetal se constitui de diversos compostos químicos, são eles: Tetracíclico propano (favelona); tricíclico benzocicloheptenos (metil-esterfavelina, deoxofavelina e favelina) (NÓBREGA, 2001). Endo et al. (1991a, 1991b) ao avaliarem as atividades biológicas desses compostos constataram que o metil-ester-favelina e a favelona possuem atividades citotóxicas.

Suas sementes apresentam proteínas, extrato etéreo, carboidratos totais, cálcio, ferro, fósforo, ácidos mirísticos, palmítico, esteárico, oléico, linoléico e araquídico (RIBEIRO, 2008).

Segundo Bezerra (1972) a faveleira apresenta como atividade biológica propriedades desinfectantes e cicatrizantes. A cataplasma da entrecasca é o medicamento usado para cicatrização de ferimentos e contra infecções ovarianas e gerais, sendo o látex utilizado contra inflamações no ovário e gerais, e utilizado contra as dermatoses e na cicatrização de verrugas. Segundo Agra (1996) suas sementes são produtoras de óleo alimentício e de farinha, esta rica em sais minerais e principalmente em proteínas.

3.11.2 Aspectos botânicos e fisiológicos de *Ricinus communis*

A mamoneira (*Ricinus communis*) (FIG. 5) é uma oleaginosa da classe das Dicotiledôneas, família Euphorbiaceae, com origem na Ásia meridional, com centro de diversidade localizada na antiga Abissínia, hoje Etiópia, no leste da África. No Brasil sua adaptação as condições edafoclimáticas foi imediata, e encontrada em praticamente todo território nacional de forma espontânea (MILANI; MAÍRA e MIGUEL, 2009).

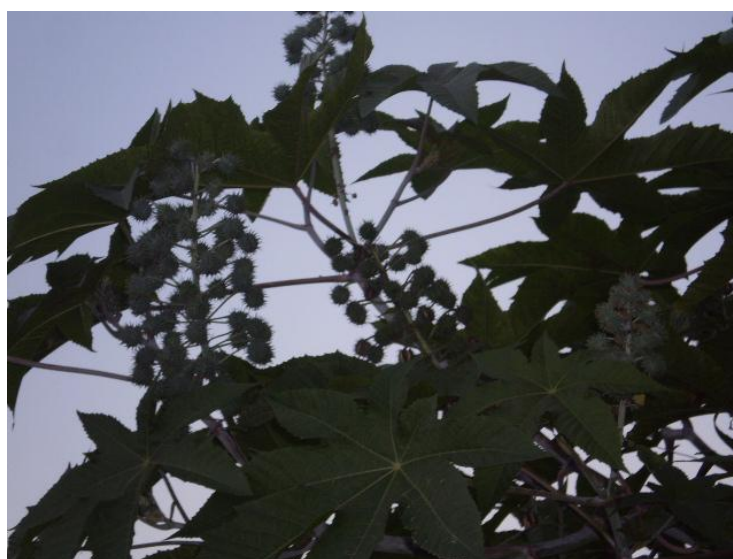


FIGURA 5. Ramos foliares e frutos de *Ricinus communis*.

No continente americano sua introdução foi feita, aparentemente, depois da chegada dos europeus, provavelmente com a importação dos escravos africanos. No Brasil, sua introdução se deu durante a colonização portuguesa, mas especificamente com tráfico de escravos vindos da África. Sendo que aqui no Brasil todas as espécies estão relacionadas às africanas. A mamona é largamente difundida em todo Brasil, não havendo praticamente terreno baldio, mata ou lavoura abandonada onde ela não cresça (MILANI; MAÍRA e MIGUEL, 2009).

A mamoneira é considerada planta tolerante a seca, entretanto necessita de uma precipitação em torno de 500 mm para que se obtenha boa produtividade. Durante o ciclo vegetativo requer cerca de 100 mm por mês, distribuídos regularmente nos primeiros quatro meses do ciclo, de modo que o florescimento dos cachos ocorra em condições de disponibilidade hídrica (BELTRÃO et al., 2001).

As plantas da espécie apresentam grande variabilidade em diversas características, como hábito de crescimento, cor das folhas e do caule, tamanho, cor e teor do óleo das sementes etc. Pode-se, portanto, encontrar tipos botânicos com porte baixo ou arbóreo, ciclo anual ou semiperene, de folhas com caule verde, vermelho ou rosa com a presença ou ausência de cera no caule, com frutos inermes ou com espinhos, deiscentes ou indeiscentes, com sementes de diversos tamanhos, colorações e teores de óleos (FIG. 6) (MILANI, MAÍRA e MIGUEL, 2009).



FIGURA 6. Semente de *R. communis*.

3.11.2.1 Variedades identificadas

A variedade de tipos de mamoneiras é grande com seis subespécies e vinte e cinco variedades botânicas, além de milhares de cultivares comerciais simples e híbridos em todo o mundo, conforme Popova e Moshkin (1986) citado por Milani, Miguel e Sousa (2009).

3.11.2.2 Constituintes químicos e atividade biológica do óleo de *Ricinus communis*.

Nas sementes de mamona o teor de óleo varia em torno de 35 a 55%. Seus constituintes químicos são ácidos graxos insaturados com mais de uma dupla ligação, chamados poliinsaturados essenciais (ácido linoléico e o ácido linolênico). Entretanto, o principal ácido graxo da mamona é o ácido ricinoléico, insaturado e pertence ao grupo dos hidroxiácidos. O grupo hidroxila presente na ricinoleína confere ao óleo de mamona propriedades exclusivas de solubilidade em álcool (RODRIGUES, 2005). A porcentagem dos constituintes químicos do óleo de mamona está descrito logo abaixo (TAB. 1).

TABELA 1. Composição química do óleo de mamona (SILVESTRE FILHO, 2001) citado por Rodrigues (2005).

Composições	Valores médios%
Acido ricinoleico	89,5
Acido palmítico	1,0
Acido linoléico (C18:2)	4,2
Acido linolênico (C18:3)	0,3
Acido dihidroxiesteático	0,7
Acido oléico	3,0
Acido eicosanóico	0,3

A mamona tem diversas aplicabilidades na sociedade, desde o setor agrícola com a comercialização das sementes ao setor industrial com extração do óleo para utilização como biocombustível. Sua importância também está relacionada ao controle biológico de pragas e doenças, além de seu emprego como antimicrobiano, acaricida, filaricidas, moluscicida, antivirais e inseticidas. Burg e Mayer (1999), ao estudarem o efeito do óleo da semente de *R. communis* sobre pulgões e piolhos descreveram como eficiente no controle desses insetos. Atividade bioinseticida desse vegetal também foi estudada por Hebling (1996), em formigas cortadeiras, verificando-se eficiência no combate a esse Hymenoptero. Santiago et al (2008) ao estudarem o efeito do extrato aquoso de frutos verde de mamona sobre larvas e pupas de *Spodoptera frugiperda* observaram uma redução no tempo de vida desses estágios e Rother et al (2009) identificou efeito tóxico de extratos de folha de *R.communis* sobre larvas de operárias de *Apis mellifera*.

3.11.3 Aspectos gerais de *Coutarea hexandra*

Murta-do-mato, também conhecida como quina, quina-branca, quina-de-dom-diogo, quina-de-pernambuco, quina-do-pará, quina-do-piauí, quina-quina, quineira e outros, refere-se a *Coutarea hexandra* representante da família Rubiaceae, subfamília Cinchonoideae (Jacq.) K. Schum. A *C. hexandra* tem ampla distribuição no Brasil e na Paraíba é conhecida por quina-quina. Suas características morfobotânicas se referem ao porte arbusto-arvoretas de tronco tortuoso e copa globosa, com inflorescência branco-rósea em panícula e sendo seu fruto tem cápsula deiscente com sementes aladas membranosas, está planta é bastante ornamental, sendo usada em paisagismo. Nativa do Brasil, e de partes úmidas da Amazônia e Mata Atlântica, ocorre em várzeas aluviais da floresta pluvial e da latifoliada semidecídua, em várias regiões do país. Explorada intensamente por seu uso medicinal, é considerada hoje árvore rara (PEREIRA, 2007).

3.11.3.1 Aspectos botânicos de *Coutarea hexandra*

Trata-se de uma bela árvore semidecídua, com copa pequena e irregular, de até 20 metros de altura, que só pode ser abatida somente depois de seis anos de plantada e de retirada de sua casca. Tronco pardo claro ou escuro, com casca irregular, cortiçada, grossa e sulcada. As folhas são simples e cartáceas, opostas e elípticas-lanceoladas, nervuras salientes na face ventral, de até 15 cm de comprimento. Flores discretamente rosadas ou brancas, em panículas axilares terminais (FIG. 7) (ALMEIDA,1990).

Seu crescimento é lento e segundo o saber popular, a colheita de suas partes áreas devem ser feitas, preferencialmente pela manhã, em lua cheia ou nova, buscando uma maior concentração de princípios ativos (PEREIRA, 2007).



FIGURA 7. Aspectos botânicos de *Coutarea hexandra*. Em (A), inflorescência, em (B), planta adulta e em (C), folhas e tecido caulinar. Fonte: Pereira, 2007.

3.11.3.2 Constituintes químicos e atividade biológica do óleo de *C. hexandra*

São encontrados 25 tipos de alcalóides; quinina (20-27%), quinidina, cinchonina, quinotoxina, quinamina, além de óleos essenciais como terpineno, humuleno, cânfora, limoneno; ácidos fenólicos como ácido quinico; fitosteróis como saponinas, taninos e resinas entre outros. O sabor amargo ocorre devido à quinovina um tripterpênico. Seus aspectos farmacológicos, refere-se aos alcalóides que interferem na eletrofisiologia cardíaca, inibindo o influxo rápido de sódio (antiarrítmica). A quinina elemento tóxico para o protozoário da malária, além de ser antiviral, fungicida, inseticida e antitumoral (AQUINO,1988).

METODOLOGIA

4.1. Bioensaio de laboratório

A pesquisa foi realizada no laboratório de entomologia do Núcleo de Sistemática e Bioecologia de Insetos (NSBI) da Universidade Estadual da Paraíba, em Campina Grande (FIG. 8)



FIGURA 8. Complexo de Laboratórios três Maria, UEPB.

4.2. Coletas das populações de *Aedes aegypti*

A população de *A. egypti* foi coletada no Bairro do Monte Santo, no município de Campina Grande, Paraíba. Durante a coleta foram instaladas 80 armadilhas ovitrampas, distribuídas em dois quarteirões, sendo uma armadilha por residência. As armadilhas de oviposição consistiram de um balde de coloração preta, medindo 30 cm de diâmetro por 15 cm de profundidade, contendo furos a 7,5 do fundo, para

evitar o preenchimento total e o transbordamento de água. No interior desta, utilizou-se como substrato de oviposição palhetas de eucatex de 12,0 cm de comprimento por 3,0 cm de largura, presas por um clipe a parede interna do balde, ficando a parte porosa exposta ao *A. aegypti* (FIG. 9). As armadilhas foram recolhidas a cada três dias após a instalação e o material coletado foi transportado ao laboratório para o estabelecimento das criações e estudo da bioatividade vegetal.

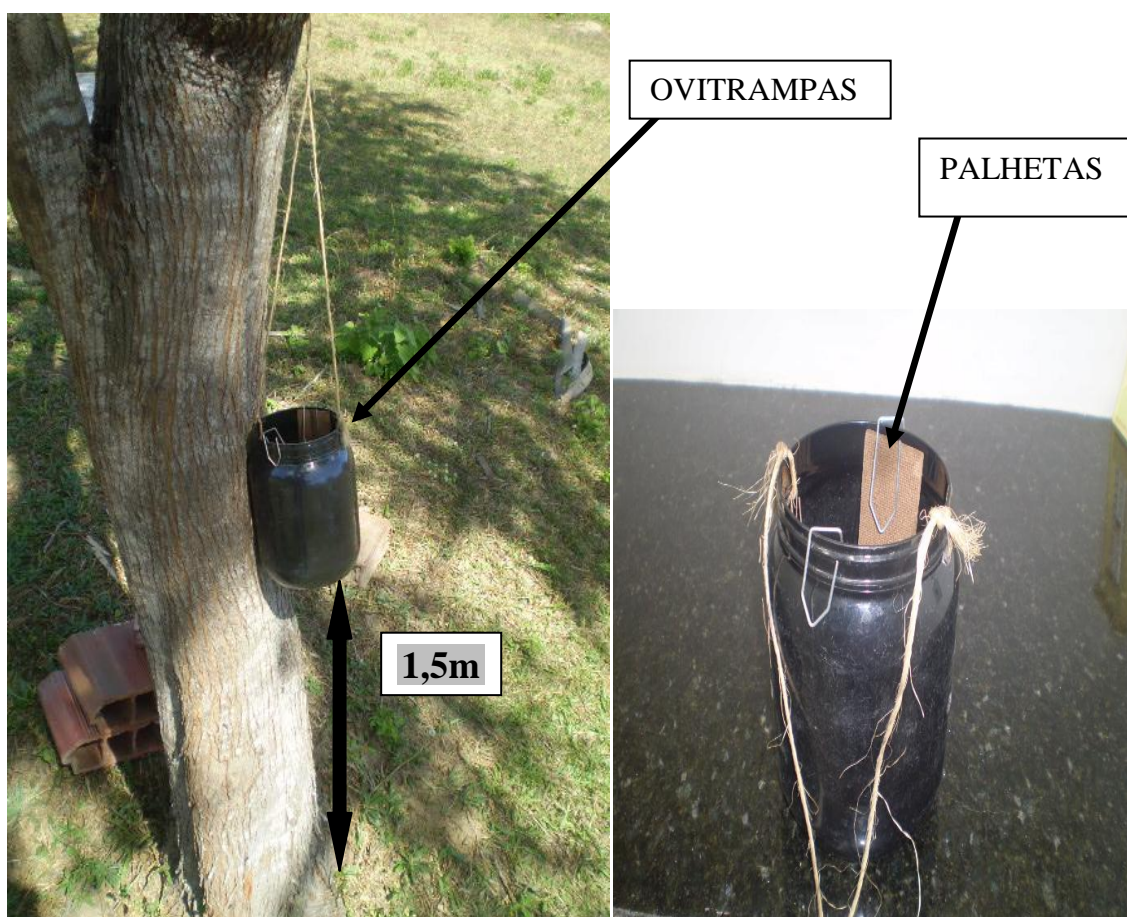


FIGURA 9. Armadilha para coleta de ovos de *Aedes aegypti* em campo.

4.3. Metodologia para criação de *Aedes aegypti* em laboratório

A implementação da criação da população de *A. aegypti* para estudos com extratos vegetais foi feita a partir de ovos coletados em campo. Essa população foi mantida em sala climatizada a temperatura de $26^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas (FIG. 10).



FIGURA 10. Sala de criação de adultos de *Aedes aegypti*.

As palhetas de eucatex contendo ovos provenientes do campo foram acondicionadas em bandejas plásticas de cor branca, medindo 47,0 cm de comprimento por 27,0 cm de largura e 7,5 cm de profundidade, com um terço de sua capacidade preenchida por água destilada (FIG. 11). Quando da eclosão das larvas, as bandejas foram cobertas por uma tela de malha fina de coloração branca e ofertada 1,0 mg/larva de ração para peixe ornamental (Goldfish crescimento) como substrato de alimentação.

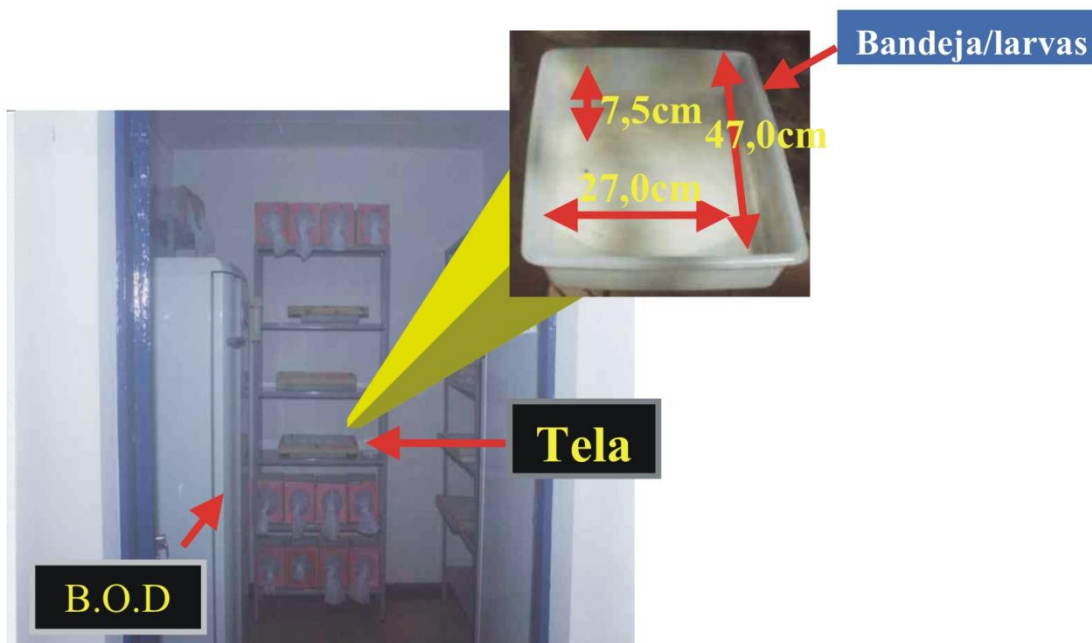


FIGURA 11. Sala de desenvolvimento larval. Fonte: Candido, 2006.

Quando da pupação, estas foram sexadas e transferidas em copos de polietileno (50 ml) para as gaiolas de criação de adultos (FIG. 12 A). Nessas gaiolas (medindo 40,0cm de altura x 40,0cm de largura x 20,0cm de fundo), construídas de armação de madeira e tecido tipo organza, foram acondicionados os adultos, na proporção de duas fêmeas para cada macho, totalizando 150 (cento e cinquenta) indivíduos por gaiola. Aos adultos foi ofertada uma solução glicosada de mel a 20% diariamente, no caso das fêmeas, foi permitido o repasto sanguíneo em codornas durante trinta minutos, três vezes por semana. Após cada repasto foi colocado, em cada gaiola, um pote de plástico descartável com capacidade para 150 ml, com um funil envolto interiormente por um papel filtro e água destilada para servi como substrato de oviposição (FIG. 12 B). As cartelas com ovos, em papel filtro, foram colocadas em bacias úmidas com tampa durante dois dias para completa ovogênese. Depois, essas posturas foram catalogadas e armazenadas em recipientes de plásticos para os testes com extratos vegetais.



FIGURA 12. Gaiola de criação de adulto de *Aedes aegypti* (A) e substrato de oviposição (B).

4.4. Obtenção e preparo dos extratos vegetais

O material para produção dos extratos de caule de *Coutarea hexandra* (quina-quina) e *Cnidocolus phyllacanthus* (faveleira) foram coletados no município de Mãe D'água – PB, no período de março de 2010. As sementes de *Ricinus communis* (mamona), foram obtidas no município de Esperança-PB, entre os meses de abril a maio do mesmo ano. Para extração do óleo da faveleira, as sementes foram cedidas pela Escola Técnica Agrícola, município de Lagoa Seca-PB, em novembro de 2009.

Os extratos alcoólicos foram obtidos a partir de 5 kg tecido do caulinar de *C. phyllacanthus* e *C. hexandra* que foram inicialmente expostos ao sol e, posteriormente, para completa desidratação, colocados em estufa a 40°C por 48 horas. Quando secas, as cascas foram trituradas em processador industrial e peneiradas até atingir a consistência de um pó uniforme. Este pó foi umidificado em etanol a 90%, através da seguinte fórmula $x=v.G/g$ (onde v é o volume, G é a porcentagem desejada do álcool e g é o grau do álcool utilizado). Após a preparação do álcool, iniciou-se o processo de lixiviação, que consiste na mistura de 1 kg do pó do vegetal para 1L de álcool a 90%, acondicionados em um percolador para extração a frio durante 48 horas. Após esse período, os extratos alcoólicos foram obtidos e concentrados em evaporador rotativo, produzindo-se os extratos brutos

(FIG. 13). Esses foram acondicionados em botes de porcelana e, em seguida, armazenados em geladeira, até os estudos de bioatividade vegetal.

As sementes de *C. phyllacanthus* e de *R. communis* foram utilizadas para a extração do óleo vegetal. Essas foram inicialmente moídas e os macerados submetidos à prensagem hidráulica a frio do qual se extraiu o óleo. Os óleos fixos foram armazenados em garrafas de vidro revestidas por papel alumínio e mantidas na geladeira até o início dos experimentos.



FIGURA 13. Percolador para extração a frio (A) e evaporador rotativo (B).

4.5. Atividade larvica dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*

Os testes larvica foram realizados de acordo com metodologia da Organização Mundial da Saúde com algumas adaptações. A atividade biológica dos extratos dos espécimes utilizados foi verificada em laboratório, em larvas nos estádios L₃ tardio e/ou L₄ inicial das populações de *A. aegypti* para a obtenção das CL₅₀ e CL₉₀. Foram utilizados 30 mg do extrato bruto das amostras testadas, dos quais foram adicionados 1ml de Tween 20. Dessas soluções foram retiradas as

concentrações de 0,09%, 0,18%, 0,375%, 0,75% e 1,5% correspondendo, respectivamente, as doses 0,18; 0,37; 0,75; 1,5 e 3 ml (FIG. 14).

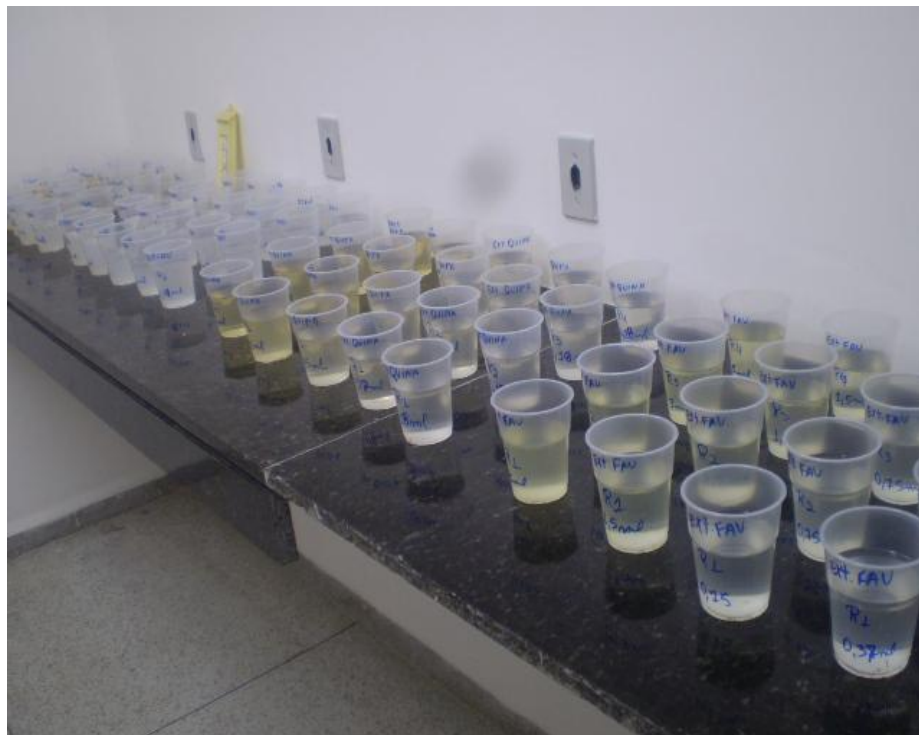


FIGURA 14. Avaliação da atividade larvicida de *Aedes aegypti*.

Para os óleos vegetais fez-se a proporção de 1:1 nas mesmas concentrações do teste com o extrato bruto. Utilizou-se como controle o emulsificante Tween 20 nas doses testadas para os produtos vegetais e a água como testemunha. As larvas e as pupas foram distribuídas em copos plásticos de polietileno com capacidade de 300 ml, contendo 200 ml de água destilada menos as concentrações dos produtos vegetais. Para cada concentração havia quatro replicas contendo 25 larvas por repetição e a mortalidade avaliada após 24 e 48 horas de exposição das larvas aos extratos vegetais, considerando como mortas as que não responderam a um toque com um bastão (FIG. 15).

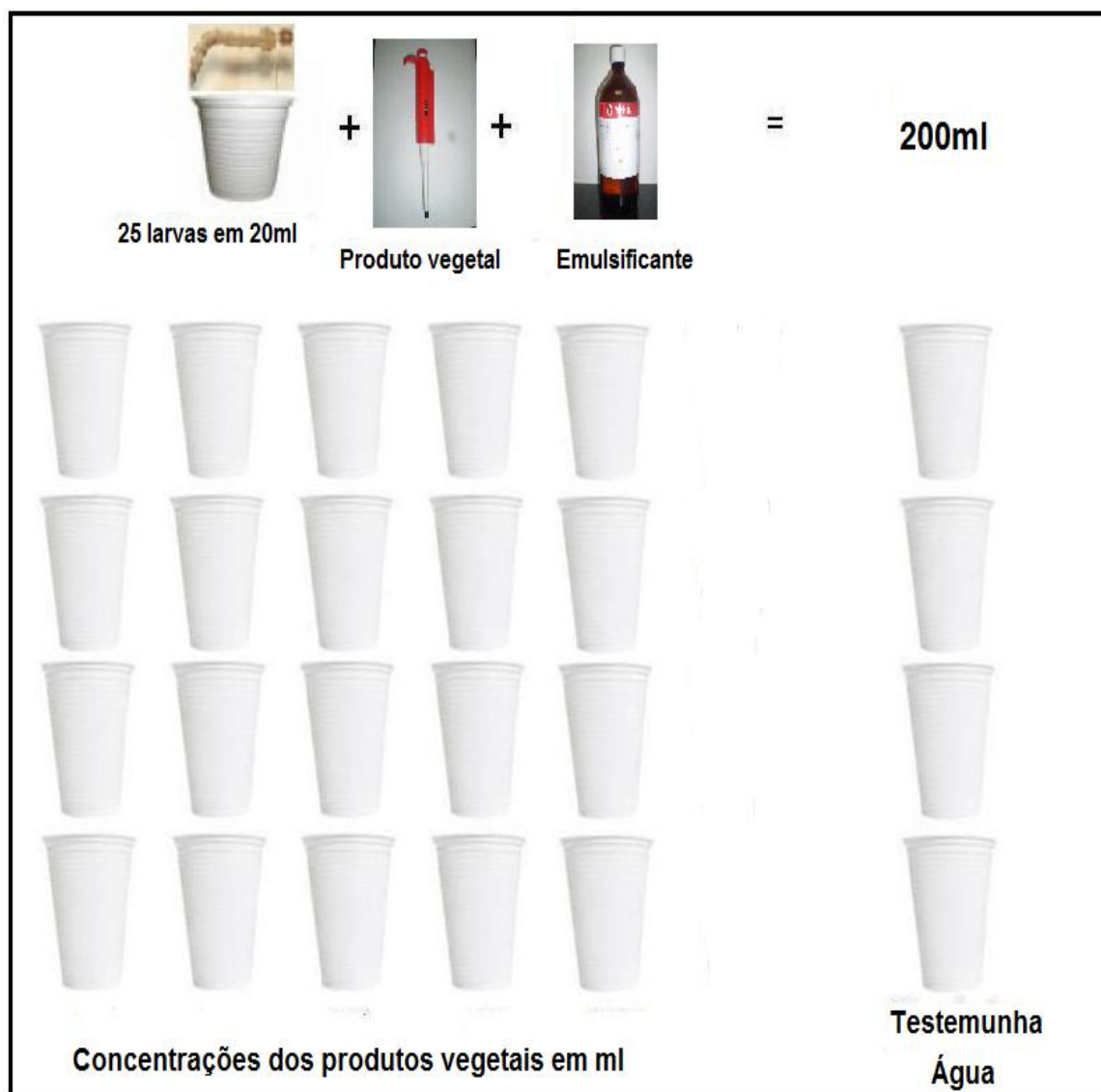


FIGURA 15. Ilustração esquemática do desenho experimental do bioensaio da atividade larvicida e pupicida utilizado para os extratos vegetais: *Ricinus communis*, *Cnidocolus phyllacanthus* e *Coutarea hexandra*.

4.6 Atividade pupicida dos extratos vegetais sobre o *Aedes aegypti*

Para estabelecer o efeito pupicida dos extratos vegetais de *C.phyllacanthus*, *C. hexandra* e *R. communis* também fez-se uso das concentrações de 0,18 ml, 0,37 ml, 0,75 ml, 1,5 ml e 3 ml, semelhantemente, ao ensaio anterior, quatro réplicas foram usadas, cada uma com 25 pupas e a leitura foi verificada após 24 e 48 horas. Na ocorrência de adultos, se mortos, foram contabilizados como pupas.

4.7 Efeito Sub Letal

O efeito sub letal, efeito acumulado das concentrações letais, dos extratos vegetais foi estabelecido através das CL_{50} e CL_{90} , diagnosticados no teste larvicida, após 48 horas de exposição aos produtos vegetais. Foram utilizadas quatro réplicas cada uma contendo 30 larvas de terceiro ínstar de *A. aegypti*.

Para acompanhar o desenvolvimento larval até o estágio de adulto foi adicionado, como substrato de alimentação a cada três dias, ração para peixe tipo Goldfish, triturada em pequena quantidade (0,026g) por copo. Diariamente foram realizadas as leituras, com a verificação do comportamento larval, a mudança de estágio, a presença de exúvia, a emergência dos adultos e a eventual mortalidade das larvas, pupas e adultos, além da temperatura da água.

Foram considerados adultos apenas aqueles que conseguiram se libertar completamente da exúvia. Na presença de indivíduos mortos na fase pré-pupa estes eram quantificados como pupa, já os indivíduos mortos no momento que se iniciava na emergência dos adultos, foram quantificados como adultos. O mesmo procedimento foi utilizado para o controle. O experimento foi conduzido até a última pupa ou adulto morrer, ou o último adulto emergir completamente (FIG. 16).



FIGURA 16. Bioensaio para avaliar o efeito sub letal das CL_{50} e CL_{90} de *Cnidocolus phyllacanthus* e *Ricinus communis* sobre o desenvolvimento biológico de *Aedes aegypti*.

4.8 Calibração do TWEEN 20.

Durante os bioensaios, realizou-se a calibração do TWEEN 20 em cinco concentrações que correspondeu às dosagens utilizadas em cada tratamento. Neste ensaio, utilizou-se do mesmo procedimento metodológico para o teste larvicida do tópico 5.5 sem, obviamente, os extratos vegetais. As cinco concentrações foram 0,09%, 0,18%, 0,375%, 0,75% e 1,5% para confirmar que essas porcentagens utilizadas nos ensaios, de fato, não causava mortalidade das larvas (FIG. 17).



FIGURA 17. Ensaio experimental do efeito do TWEEN 20 sobre as larvas de *Aedes aegypti*.

4.9 Teste para verificação da atividade adulticida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*.

Para avaliar o efeito adulticida, utilizou-se 0,5 ml e 1 ml das amostras dos óleos vegetais estudados e 50 mg e 100 mg dos extratos brutos que foram solubilizadas em 0,2 ml de acetona e aplicado em papel filtro. Essas soluções foram introduzidas em gaiolas de armação de madeira (30cm x 30cm) revestidas por um plástico

transparente contendo 30 insetos adultos de *A. aegypti*. Após 1 hora de exposição foram retirados os papéis filtros contendo as soluções, sendo que os insetos adultos do vetor foram retidos por um período de 24 horas e, posteriormente, realizada a leitura, verificando-se quantos mosquitos foram mortos. Como controle, fez-se uso de duas gaiolas contendo os insetos adultos, sendo uma sem amostra e outra apenas com a concentração referente ao solvente (FIG. 18).



FIGURA 18. Teste para verificar a atividade adulticida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*. Em (A) os tratamentos, em (B) os insetos adultos expostos as soluções e em (C) o papel filtro com o produto vegetal.

4.10 Efeito de repelência dos extratos de *Cnidocolus phyllacanthus* (óleo) e *Ricinus communis* em adultos de *Aedes aegypti* sobre substrato de oviposição

O efeito de repelência dos extratos de *C. phyllacanthus* e *R. communis* foi avaliado utilizando-se as doses letais (CL₅₀ e CL₉₀) verificadas no teste larvicida. O teste de preferência para a oviposição de *A. aegypti*, baseou-se em duas situações:

4.10.1 Teste de múltipla escolha

Neste teste a preferência para oviposição foi avaliada considerando um delineamento experimental em blocos ao acaso, com três tratamentos constituídos pelas CL₅₀ e CL₉₀ e água destilada como testemunha, em seis repetições. Cada repetição foi constituída por uma gaiola de armação de madeira telada (40,0 cm de altura x 40,0 cm de largura x 30,0 cm de fundo) contendo dez casais de *A. aegypti*. Aos casais foi ofertada uma solução de mel a 20% e permitido às fêmeas o repasto sanguíneo em codornas por um período de 30 minutos por três dias intercalados. Após o terceiro repasto sanguíneo foram distribuídas no interior das gaiolas, as três soluções, contidas no interior de copos descartáveis de 200 ml. Em cada copo foi colocado um funil plástico revestido por um papel filtro para servir de substrato de oviposição. As avaliações foram diárias, durante um período de 72 horas, sendo, cada dia, retirados os papeis e contabilizados o número de ovos com o auxílio de um microscópio estereoscópico (FIG. 19).

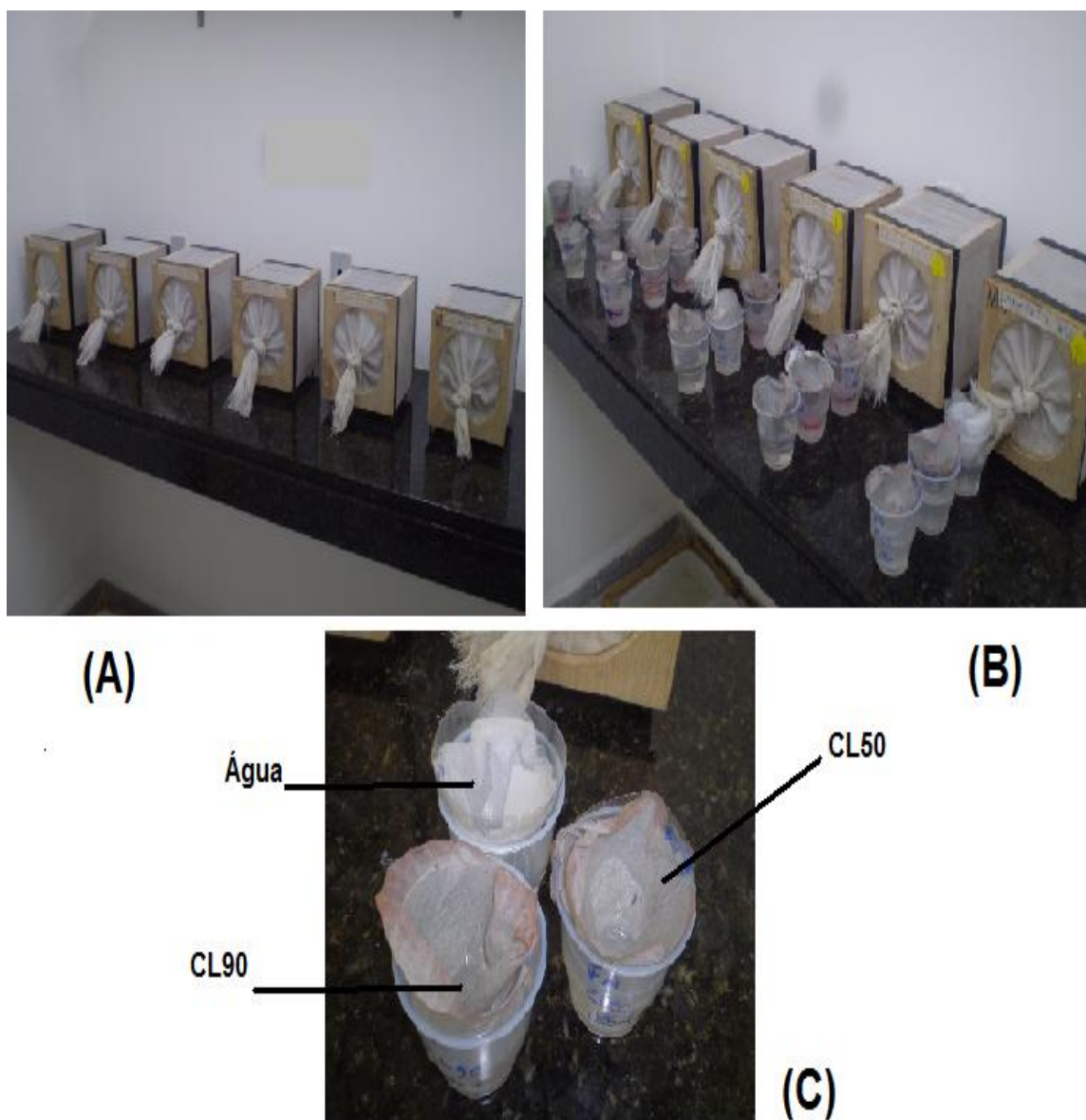


FIGURA 19. Teste de preferência de oviposição de *Aedes aegypti*. Em (A) número de repetições, em (B) número de tratamento por repetição e (C) os tratamentos.

4.10.2 Teste sem chance de escolha

Neste teste foi avaliada a preferência para oviposição seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizados, com três repetições por tratamento, cada constituído de uma gaiola de madeira telada (20 cm²), contendo dez casais de *A. aegypti* e apenas um substrato para oviposição com um tipo de solução. Foram utilizados as CL₅₀ e CL₉₀ obtidas pelos óleos vegetais de *C. phyllacanthus* e *R. communis*. As avaliações foram diárias, seguindo os mesmos procedimentos do teste de múltipla escolha (FIG. 20).



FIGURA 20. Teste sem preferência de escolha para oviposição de *Aedes aegypti*.

4.11 Efeito ovicida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*

O efeito ovicida dos extratos vegetais sobre a população do *A. aegypti* foi avaliado a partir das concentrações letais CL_{50} e CL_{90} , obtido no teste com larvas desse vetor após 24 horas de exposição. Para cada solução, discos de papel filtro contendo 50 ovos foram imersos por 20 segundos e, posteriormente, colocadas para secar por 10 minutos em seguida foram introduzidos em placas de Petri (15,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de profundidade), contendo água destilada suficiente para encobrir os ovos. Esse tratamento teve 4 repetições. Após 24 horas de exposição dos ovos aos produtos foram realizadas, diariamente, durante 10 dias a contagens de larvas eclodidas, considerando-se como inviáveis os ovos que após 10 dias não apresentaram eclosão de larvas. Utilizou-se como controle as CL_{50} e CL_{90} referentes ao emulsificante TWEEN 20, em quatro repetições, e a água como testemunha (FIG. 21).



FIGURA 21. Teste para verificação do efeito ovicida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*.

4.12 Análise dos dados

Dados de mortalidade de larvas, adultos e ovos da população analisada foram submetidos á análise de Probit através do programa POLO-PC, para a determinação da concentração letal (CL_{90}) para a população do *A.aegypti*. Não houve a necessidade da correção dos dados pela formula de Abbott (1925). A avaliação da atratividade ou repelência das soluções para as fêmeas de *A. aegypti* e as médias referentes a preferência para oviposição em múltipla escolha foram comparadas pelo teste de Friedman ($P < 0,05$) e teste sem chance de escolha pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), determinando-se, ainda, o indice de oviposição ativa (IOA) através da formula de Kramer e Mulla (1979):

$$IOA = \frac{N_t - N_c}{N_t + N_c}$$

Em que **N_t**= número de ovos na solução teste e **N_c**= número de ovos na solução controle. Segundo esses autores o $IOA \geq + 0.3$ indica atratividade, enquanto que $IOA \leq 0,3$ indica que a solução é repelente para a oviposição. Os gráficos para PCAs foram feitos através do software Origin e os demais por meio dos programas SPSS for Windows e Excel 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Bioensaios

5.2. Atividade larvicida dos extratos vegetais

Quanto a atividade larvicida dos produtos vegetais analisados, observou-se que apenas os óleos vegetais demonstraram resultados significativos contra as larvas L₃ de *A. aegypti* (TAB. 2).

TABELA 2. Análise do efeito larvicida dos extratos vegetais de *Cnidocolus phyllacanthus*, *Ricinus communis* e *Coutarea hexandra* com suas respectivas concentrações letais (CL), intervalos de confiança (95%), qui-quadrado (X^2) e coeficiente angular (Slope) após leitura de 24 e 48 horas de exposição das larvas de *A. aegypti* aos produtos vegetais.

		R. <i>communis</i> (óleo)	C. <i>hexandra</i> (ext. bruto)	C. <i>phyllacanthus</i> (ext. bruto)	C. <i>phyllacanthus</i> (óleo)
24 h	CL ₅₀	0,05 ml (0,01-0,09)	200,32 ml (22,84-.....)	0,55 ml (0,44-0,68)
	CL ₉₀	0,50 ml (0,36-0,73)	11663,13 ml (258,47-.....)	3,06 ml (2,15-5,21)
	x^2	18.40	17.33	15.48	27.35
	Slope	1.29±0.22	0.40±0.24	0.72±0.25	1.72±0.15
48 h	CL ₅₀	0,02 ml (0,0002-0,06)	1292,43 ml	14,69 ml (6,94-74,20)	0,12 ml (0,05-0,18)
	CL ₉₀	0,14 ml (0,03-0,22)	204,77 ml (47,84-5251,2)	0,77 ml (0,56-1,23)
	x^2	15.01	22.96	13.21	27.54
	Slope	1.64±0.54	0.35±0.17	1.12±0.22	1.58±0.21

Os testes com os óleos vegetais de *R. communis* e *C. phyllacanthus* sobre larvas L₃ de *A. aegypti* foram, dos quatro extratos testados, os que demonstraram ser mais promissores no controle larval desse díptero, confirmado através das CL₅₀ de 0,05 ml e 0,55 ml e CL₉₀ de 0,50 ml e 3,06 ml verificados após 24 horas de exposição, indicando que são necessários menores concentrações desses produtos

para se obter uma mortalidade larval de 50 a 90% da população. Dentre as espécies avaliadas, o óleo de *R. communis*, conhecido popularmente por mamona, foi o mais eficaz com concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) de menores valores em relação aos demais espécies em estudo (TAB. 2).

Comparando os intervalos de confiança de cada concentração letal dos quatro produtos testados, após 24 e 48 horas de exposição, pode-se perceber que não ocorreu sobreposição dos valores obtidos, indicando que os produtos, do ponto de vista quantitativo, atuaram sobre o inseto de forma distinta. Corroborar a essa afirmação quando se avalia os coeficientes angulares da análise de Probit de cada extrato, no qual os valores verificados foram estatisticamente diferentes. Todo o experimento a partir dos valores do χ^2 indica adequação dos dados ao modelo de Probit ($p < 0,95$) (TAB. 2).

A atividade larvicida verificada pelo óleo de *R. communis* pode ser atribuída aos seus componentes químicos como, por exemplo, o ácido ricinoléico um derivado da ricina, substância altamente tóxica que está presente em abundância no óleo da semente desse vegetal e, neste trabalho, de alguma forma atuou negativamente na fisiologia larval desse vetor. O efeito inseticida da mamona foi avaliado por outros pesquisadores em diferentes espécies de insetos. Hebling (1996), avaliou a bioatividade de *R. communis* sobre formigas cortadeiras e demonstrou eficácia no combate a esse Hymenoptero, e Burg e Mayer (1999) testou o efeito do óleo da semente de *R. communis* sobre pulgões e piolhos de diferentes espécies descrevendo como promissor no controle desses insetos. Santiago et al (2008), ao estudar o efeito do extrato aquoso de frutos verde de mamona sobre larvas e pupas de *Spodoptera frugiperda* observou uma redução no tempo de vida desses estágios e Rother et al (2009) identificou efeito tóxico de extratos de folha de *R. communis* sobre larvas de operárias de *Apis mellifera*. Além de Sismeiro et al (2010) que testou o efeito de extratos de semente de *R. communis* sobre pupa e larva de *S. frugiperda*, obtendo 14,89% de deformação e 50,92% de mortalidade de lagartas, indicando seu potencial larvicida.

O óleo da semente de *C. phyllacanthus*, após 24 horas de exposição, também demonstrou potencial larvicida com CL₅₀ e CL₉₀, respectivamente, de 0,55ml e 3,06ml. No entanto, quando se avaliou o efeito do extrato bruto da casca desse vegetal, após 24 e 48 horas de exposição, sobre larvas desse vetor foram obtidos valores de CL₅₀ (200,32ml) e CL₉₀ (11663,13ml) e CL₅₀ (14,69ml) e CL₉₀ (204,77ml)

bastante elevados, indicando que esse produto, nas concentrações estudadas, do ponto de vista quantitativo, apresenta baixa toxicidade a essa forma imatura de *A. aegypti*. Esse resultado diverge do verificado por Candido (2006), que ao avaliar o efeito de extrato alcoólico da casca de *C. phyllacanthus* sobre larvas desse mosquito obteve, após 24 horas de exposição, CL₅₀ (2,87ml) e CL₉₀ (166,55ml), respectivamente. Essa discrepância na resposta do produto se deve em parte, provavelmente, a diferenças na produção dos extratos, já que neste trabalho não há a interferência do álcool nos tratamentos (TAB. 2).

A partir dos resultados obtidos com o bioensaio realizado com extrato bruto do caule de *C. hexandra*, comumente conhecida por quina-quina, pode-se inferir que tratar-se de uma planta atóxica sobre o estágio L₃ do *A. aegypti*, já que não foi possível estimar, após 24 horas de exposição, as CL₅₀ e CL₉₀. Por essa planta possuir a quinina substância eficaz no controle febril da Malária, levantou-se a hipótese de seu extrato possuir princípios ativos com propriedades larvicida, no entanto, após a execução dos bioensaios, não verificou tal atividade.

Apesar do resultado promissor obtido pelos óleos de *R. communis* e *C. phyllacanthus*, há poucas informações acumuladas sobre sua utilização como inseticida, principalmente, em relação ao *A. aegypti*, do qual, não se encontrou trabalhos de pesquisas que avaliam a ação desses vegetais sobre esse Diptera.

Na avaliação da mortalidade após 48 horas de exposição das larvas aos produtos vegetais, destacou-se o extrato do óleo da semente de *R. communis*, que assim como o teste após 24 horas de exposição também apresentou as menores concentrações letais (CL₅₀= 0,02 ml e CL₉₀ =0,14 ml) para larvas de *A. aegypti*. O período maior de exposição das larvas desse vetor aos produtos vegetais também influenciou no desempenho do extrato do óleo da semente de *C. phyllacanthus* que obteve menores valores no teste de dose-resposta capazes de causar 50 a 90% de mortalidade larval, sendo respectivamente de CL₅₀ (0,12 ml) e CL₉₀ (0,77 ml) (Tabela 2).

Quando se avaliou o efeito dos extratos brutos de *C. phyllacanthus* e *C. hexandra* sobre o estágio L₃ ou/e L₄ de *A. aegypti* após 48 horas de tratamento, percebeu-se que apesar da considerável redução nos valores das doses letais (CL₅₀ e CL₉₀) para a faveleira e o diagnóstico da CL₅₀ para quina-quina, em relação ao teste realizado após 24 horas de exposição, esses ainda se demonstram bastante elevados podendo, considerá-los como ineficientes no controle larval desse díptero (TAB. 2).

Para avaliar possíveis sobreposições no comportamento larvicida dos extratos estudados foi realizada uma PCA com o conjunto de 16 amostras, constituídas por 5 concentrações múltiplas dos produtos vegetais. Observa-se que a análise mostrou ao longo da PC1/PC2 que há separação em três grupos, com 98% da variância explicada dos dados, são eles: *C. hexandra* junto de *C. phyllacanthus* (caule), *R. communis* e *C. phyllacanthus* (óleo). A figura 22, dos escores PC1 versus PC2 expressa graficamente esse comportamento em função das concentrações dos produtos vegetais após 24 horas de exposição.

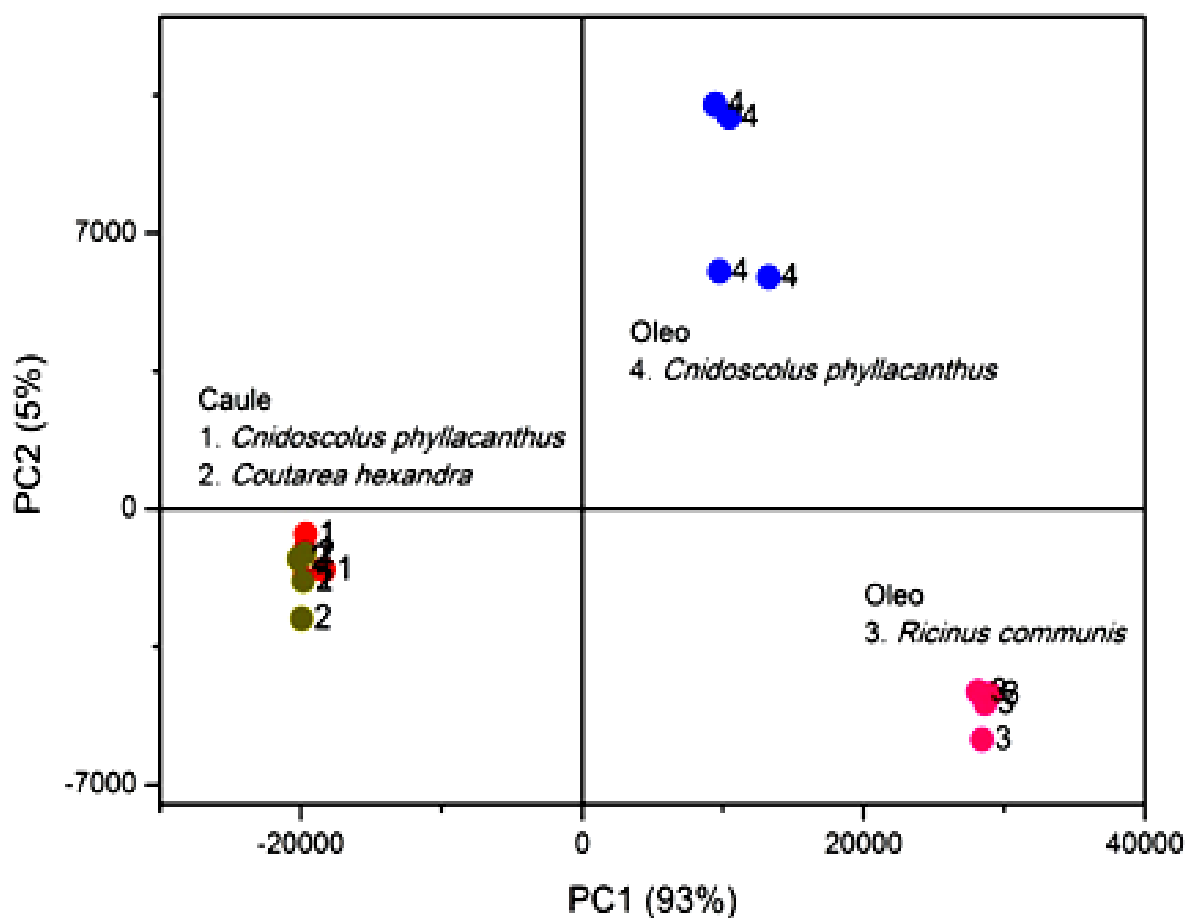


FIGURA 22. Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 24 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti*.

Este resultado permite inferir que houve diferença no comportamento larvicida entre os óleos vegetais e os extratos brutos do caule, mas não entre os extratos de *C. phyllacanthus* (caule) e *C. hexandra* (caule) que formaram um único grupo. Essa

similaridade entre os extratos brutos do caule pode ser confirmada quando se compara os valores mínimos dos coeficientes angulares da reta de regressão desses produtos, do qual foram próximos (TAB. 2).

Para as duas PCs os produtos naturais analisados ficam completamente separados diante dos dados de toxicidade dos extratos vegetais. Quando se avalia a PC2, com apenas 5% da variância dos dados, sendo justamente o responsável por essa separação, tem-se uma dimensão do comportamento diferencial larvicida desses vegetais. Corroborar esse resultado quando se verifica que as CL_{50} e CL_{90} não foram às mesmas entre os tratamentos, significando que elas diferem quantitativamente em relação a dose-resposta (FIG. 22).

Ao realizar a PCA dos dados, com 100% de variância, após 48 horas de exposição (FIG. 23), observa-se que os resultados foram semelhantes aos verificados após 24 horas, havendo apenas um distanciamento das repetições entre os tratamentos. O aumento no período de exposição aos produtos pode ter acarretado um comportamento diferencial das amostras implicando nesse distanciamento.

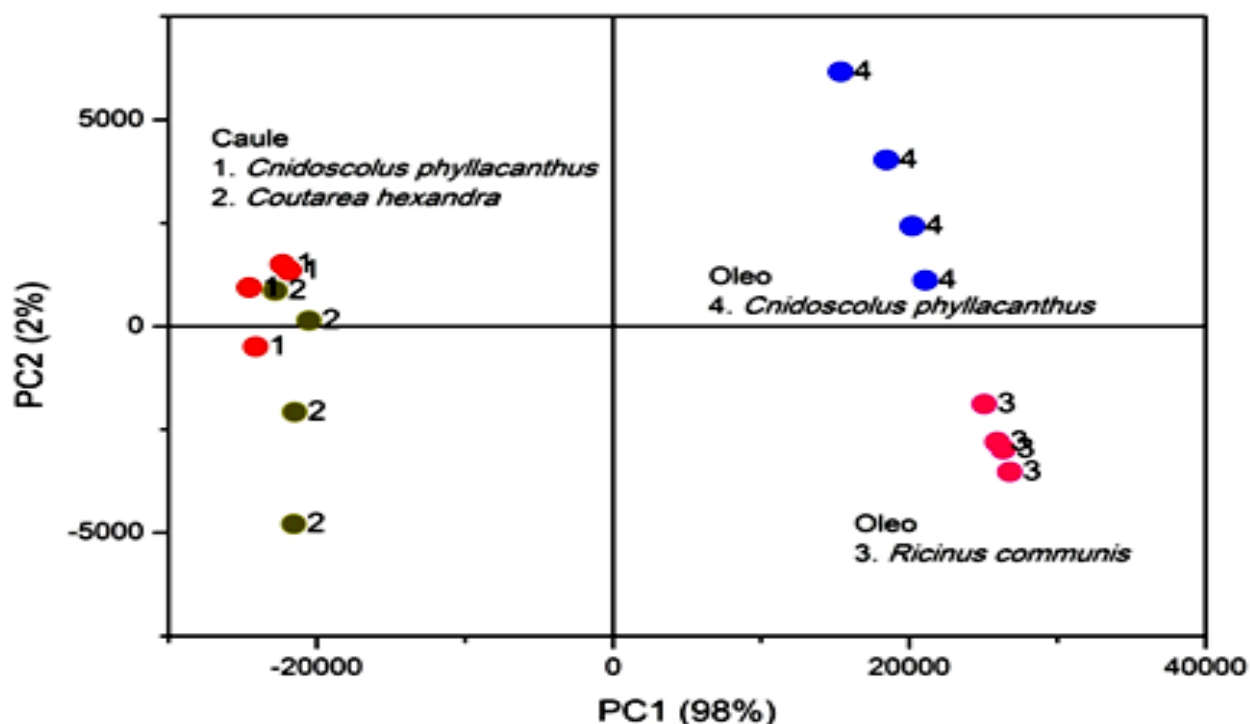


FIGURA 23. Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 48 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti*.

As figuras 24 e 25 ilustram graficamente a atividade larvicida dos extratos vegetais em função da concentração e do tempo de exposição.

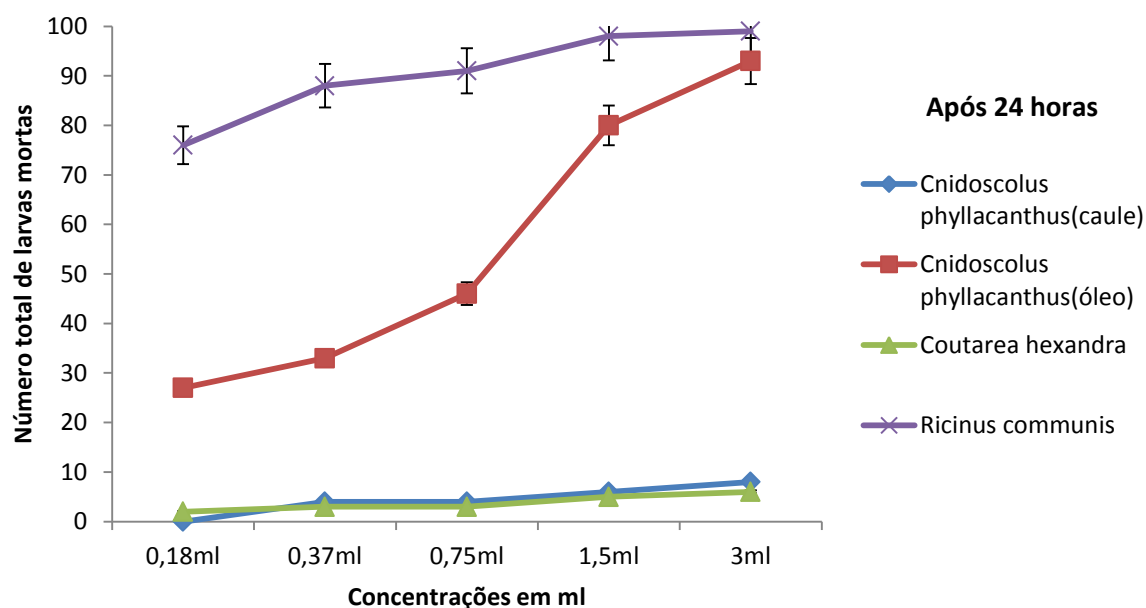


FIGURA 24. Ilustração gráfica da atividade larvicida dos produtos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 100 larvas. Desvio padrão(σ)=5%.

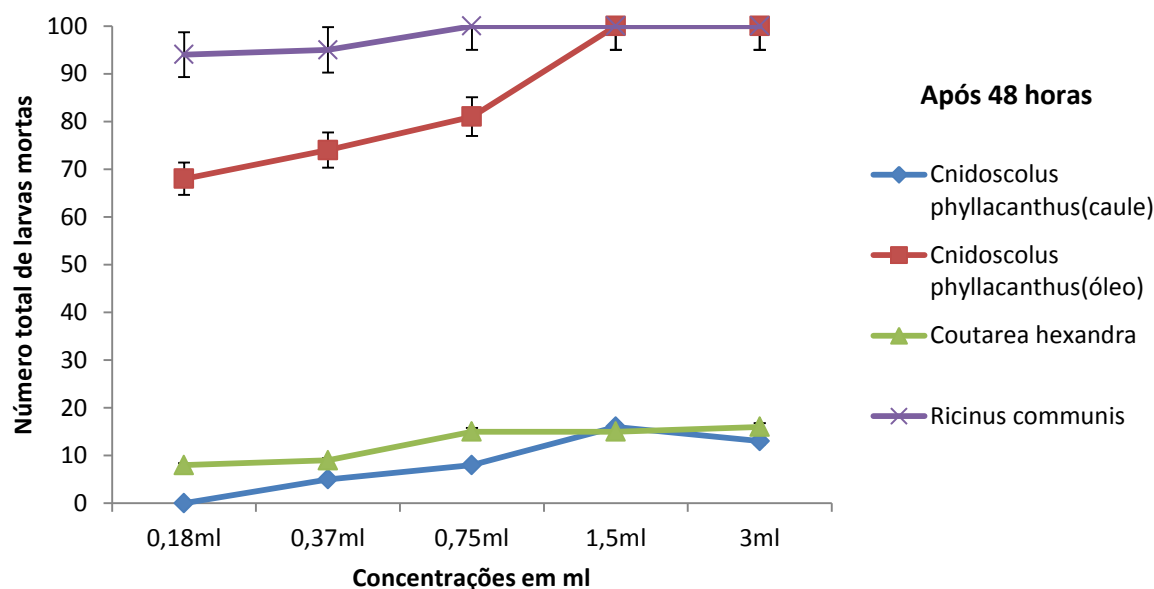


FIGURA 25. Ilustração gráfica da atividade larvicida dos produtos vegetais em função da concentração após 48 horas. Para cada tratamento havia 100 larvas. Desvio padrão (σ)=5%.

Nestes gráficos, observa-se que a partir da menor concentração avaliada; 0,18ml, durante 24 e 48 horas de tratamento, para os produtos de *R. communis* e *C.phyllacanthus* (óleo) , tem-se uma atividade larvicida bastante considerável. Nessa condição a atividade larvicida de *R. communis* após 24 e 48 horas foi de 76% e 92%, e para *C. phyllacanthus* (óleo) foi de 28% e 64%. Desta forma, pode-se inferir que na concentração de 0,18 ml os extratos oleosos têm comportamento similar sobre a mortalidade das larvas de *A. aegypti*, demonstrando potencial larvicida na dose inicial.

Para *R. communis*, entre as dosagens de 0,75 ml e 3 ml, tanto a 24 quanto a 48 horas de tratamento, percebe-se uma diferença discreta na atividade larvicida, indicando que a dose de 0,75 ml é suficiente para causar uma mortalidade larval maior que 90%. Isso não se aplica ao avaliar o comportamento larvicida do óleo vegetal de *C. phyllacanthus* (óleo) entre 0,75 ml e 3 ml, no qual é evidente o aumento acentuado da atividade larval a partir de 1,5 ml durante 24 e 48 horas exposição (FIG. 24 e 25).

Ao avaliar o efeito das concentrações dos extratos bruto do caule de *C. phyllacanthus* e *C. hexandra* sobre larvas L₃ de *A. aegypti*, verificou-se que durante 24 horas entre a concentração mínima (0,18ml) e a máxima (3ml) houve baixa mortalidade larval sendo possível considerar, nessa condição, os extratos bruto do caule desses vegetais como atóxicos para essa forma imatura desse inseto. Observa-se também que mesmo após 48 horas, as concentrações desses produtos entre 0,18 ml a 3 ml exerceu pouca influência na mortalidade das larvas desse vetor.

Em relação ao período de exposição aos produtos vegetais as figuras (24 e 25) demonstram a relação direta entre o aumento do tempo de contato das larvas aos produtos e seu efeito larvicida. Esse resultado pode ser confirmado ao avaliar o efeito de *C. phyllacanthus* (óleo) e *C. hexandra* a partir de 0,18 ml, que para o primeiro a 24 horas de exposição obteve 28% de mortalidade larval subindo para 64% após 48 horas de tratamento. Para *C. hexandra* durante 24 horas não houve atividade larvicida sendo que após 48 horas foi observado 12% de mortalidade das larvas a esse produto. Entretanto, observa-se que para o extrato bruto do caule de *C. phyllacanthus* mesmo após 48 horas de exposição, não há diferença significativa em relação ao período de 24 horas, indicando, provavelmente, pouca atividade do produto sobre esse estágio do ciclo de vida de *A. aegypti*.

5.3 Atividade pupicida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*

Quando se avaliou o efeito dos extratos vegetais sobre o estágio de pupa de *A. aegypti*, observou-se que todos apresentaram resultados significativos com valores das CL_{50} e CL_{90} mais promissores do que os obtidos pelo teste larvicida (TAB. 3).

TABELA 3. Análise do efeito pupicida dos extratos vegetais de *Cnidocolus phyllacanthus*, *Ricinus communis* e *Coutarea hexandra* com suas respectivas concentrações letais (CL), intervalos de confiança (95%), qui-quadrado (χ^2) e coeficiente angular (Slope) após leitura de 24 e 48 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti* aos produtos vegetais.

		R. <i>communis</i> (óleo)	C. <i>hexandra</i> (ext. bruto)	C. <i>phyllacanthus</i> (ext. bruto)	C. <i>phyllacanthus</i> (óleo)
24 h	CL_{50}	0,01 ml (0,00-0,06)	0,07 ml (0,03-0,11)	0,09 ml (0,02-0,17)	0,03 ml (0,002-0,09)
	CL_{90}	0,19 ml (0,06-0,31)	0,44 ml (0,35-0,60)	0,74 ml (0,49-1,53)	0,30 ml (0,17-0,47)
	χ^2	21.38	12.14	45.69	27.14
	Slope	1.27±0.33	1.63±0.27	1,45±0.20	1.44±0.29
48 h	CL_{50}	0,01 ml	0,002 ml	0,01ml	0,13 ml
	CL_{90}	0,06 ml	0,03 ml	0,10 ml	0,15 ml
	χ^2	10.95	9.58	3.03	11.62
	Slope	1.63±1.02	1.22±0.96	1.35±0.50	18.67±31.56

Assim como no teste larvicida, dentre os produtos testados, os óleos vegetais de *R. communis* e *C. phyllacanthus* demonstraram maior eficiência no controle de pupas desse vetor, confirmado através das doses letais (CL_{50} e CL_{90}) obtidas após 24 horas de exposição aos extratos, respectivamente de 0,01ml e 0,19 ml para primeiro e de 0,03 ml e 0,30 ml para o segundo, indicando ser necessário pequenas doses desses produtos para se obter uma atividade pupicida de 50% a 90% da população. O óleo extraído da semente de *R. communis*, entre os produtos avaliados, demonstrou maior atividade pupicida com menores valores das CL_{50} e CL_{90} tanto após 24 horas quanto para 48 horas de exposição.

A análise dos intervalos de confiança das concentrações letais dos extratos testados indica que apesar dos valores serem próximos não houve sobreposição. Do ponto de vista quantitativo os produtos agem de forma diferente sobre o estágio de pupa desse inseto. Essa afirmação é reforçada quando se compara os coeficientes angulares das retas de regressão da análise de Probit de cada produto vegetal, após 24 e 48 horas, onde os valores indicados foram distintos. No entanto, os valores obtidos para os coeficientes angulares dos extratos do caule e da semente de *C. phyllacanthus*, após 24 horas de exposição, foram similares indicando que nesse período de tratamento há semelhança, entre esses produtos, na forma de ação sobre esse estágio do ciclo de *A. aegypti* (TAB. 3). Esse resultado pode ser justificado quando se considera que apesar da origem dos extratos serem de partes diferentes da planta, trata-se da mesma espécie. Segundo Santos (2004), o local de biossíntese de compostos químicos não está restrito a um órgão vegetal, dessa forma, os produtos são acumulados em toda planta ou em órgãos diferentes devido a um sistema intercelular.

Assim como no teste larvicida, os valores obtidos para o qui-quadrado (χ^2) adéquam ao modelo de Probit ($p > 0,95$), com exceção do resultado verificado pelo extrato bruto do caule de *C. phyllacanthus* após 24 horas, no qual o valor excedeu o tabelado. Esse resultado não invalida o efeito pupicida desse produto sobre *A. aegypti*, já que se trata de um estudo que utiliza um número biologicamente elevado de amostras é, naturalmente esperado, uma heterogeneidade nos resultados.

O estudo feito após 48 horas de exposição das pupas aos produtos vegetais, tornou-se notório a maior interação dos extratos a esse estágio do ciclo de vida de *A. aegypti*, confirmado-se através da redução das doses letais capazes de matar 50 e 90% da população, além da ausência dos intervalos de confiança relacionados às CL_{50} e CL_{90} . Esse resultado permite inferir que o aumento no período de exposição aos produtos vegetais potencializa o efeito pupicida dessas soluções. Dentre os produtos analisados após esse período de tratamento, foi verificado que os menores valores das CL_{50} e CL_{90} (0,002 ml e 0,03 ml) foram obtidas pelo extrato de *C. hexandra* que interagiu de forma mais eficiente com as pupas desse mosquito. Conhecida comumente por quina-quina essa planta têm propriedades anti-inflamatória, abortiva e antimalárica. Seus estudos fitoquímicos revelaram a presença de flavonóides e cumarinas conhecido na literatura por seus efeitos anti-inflamatório, antiviral e antibiótica (LUCENA et al, 2006). Apesar dessas

propriedades farmacológicas não foram encontrados na literatura estudos que investigassem o efeito dessa planta sobre *A. aegypti*. O extrato de *R. communis* e *C. phyllacanthus* (caule) se comportaram de forma semelhante demonstrando potencialidade no controle de pupas desse inseto após 48 horas de exposição, sendo expresso através das doses letais, respectivamente de, $CL_{50}= 0,01$ ml e $CL_{90}= 0,06$ ml e de $CL_{50}= 0,01$ ml e $CL_{90}= 0,10$ ml (TAB. 3).

Para todos os produtos os valores das CL_{50} e CL_{90} foram mais significativos em relação aos obtidos com teste larvicida. Um fato curioso foi observado pelos extratos brutos de *C. hexandra* e *C. phyllacanthus*, que demonstraram ser atóxicos sobre larvas L_3 desse vetor, no entanto, letais sobre as pupas. O comportamento desses produtos sobre o estágio de pupa de *A. aegypti*, provavelmente, pode está relacionado às diferenças morfológicas presentes entre pupas e larvas desse inseto, indicando que a toxicidade desses produtos seja, provavelmente, por contato ou asfixia, e não por ingestão, já que nesse estágio de vida não ocorre nutrição.

Atualmente há vários estudos sobre a atividade de plantas sobre o *A. aegypti*, principalmente, sua ação larvicida. Entretanto, no que diz respeito ao efeito de produtos naturais sobre o estágio de pupa ainda há poucos trabalhos. Neste sentido, no presente estudo não foi possível encontrar trabalhos de pesquisa que avaliasse o efeito dos extratos em questão sobre estágio de pupa desse vetor. No entanto, trabalhos com atividade pupicida com outras plantas sobre dípteros foram desenvolvidos por Morais (2009) com *A. coriacea* sobre o *A. aegypti* com 62,5% de mortalidade de pupa na concentração de 500ppm. Macchioni et al. (2004), com *Condonopsis javanica* sobre *A. albopictus*, verificando 75% de mortalidade de pupas na concentração de 60.000 ppm. Nathan et al. (2006), com extratos de folhas e sementes de *Melia azedarach* sobre *A. stephensi* alcançando respectivamente, 92,3% e 90,9% de mortalidade em 20.000 ppm. Nathan (2007), testou *Eucalyptus tereticornis* sobre *Anopheles stephensi* e constatou que a 160 ppm 88% de mortalidade das pupas.

Apesar da diferença dos vegetais estudados e das concentrações utilizadas no presente trabalho, os resultados acima discutidos só corroboram com a necessidade do desenvolvimento de pesquisas que utilizem extratos de plantas com propósito de avaliar seus efeitos sobre pupas de *A. aegypti*.

Com o propósito de verificar semelhanças ou discrepâncias no comportamento das concentrações dos produtos estudados em função da mortalidade de pupas de *A. aegypti*, foi realizada uma PCA utilizando os mesmos procedimentos dos dados do teste larvicida. A avaliação da atividade pupicida dos extratos vegetais através da análise da PC1 versus PC2, com 95% de variância dos dados, mostra que não houve diferenças na resposta da mortalidade entre os tratamentos após 24 horas de exposição. Ao visualizar a FIG. 26, percebe-se que todas as amostras estão misturadas, ou seja, a toxicidade dos produtos é a mesma diante do estágio de pupa desse vetor. Em relação ao bioensaio com larvas, verificou-se que neste experimento não houve separação entre os extratos brutos dos caules e os óleos vegetais, neste sentido, todos os produtos testados demonstraram potencialidade no controle de pupas de *A. aegypti*.

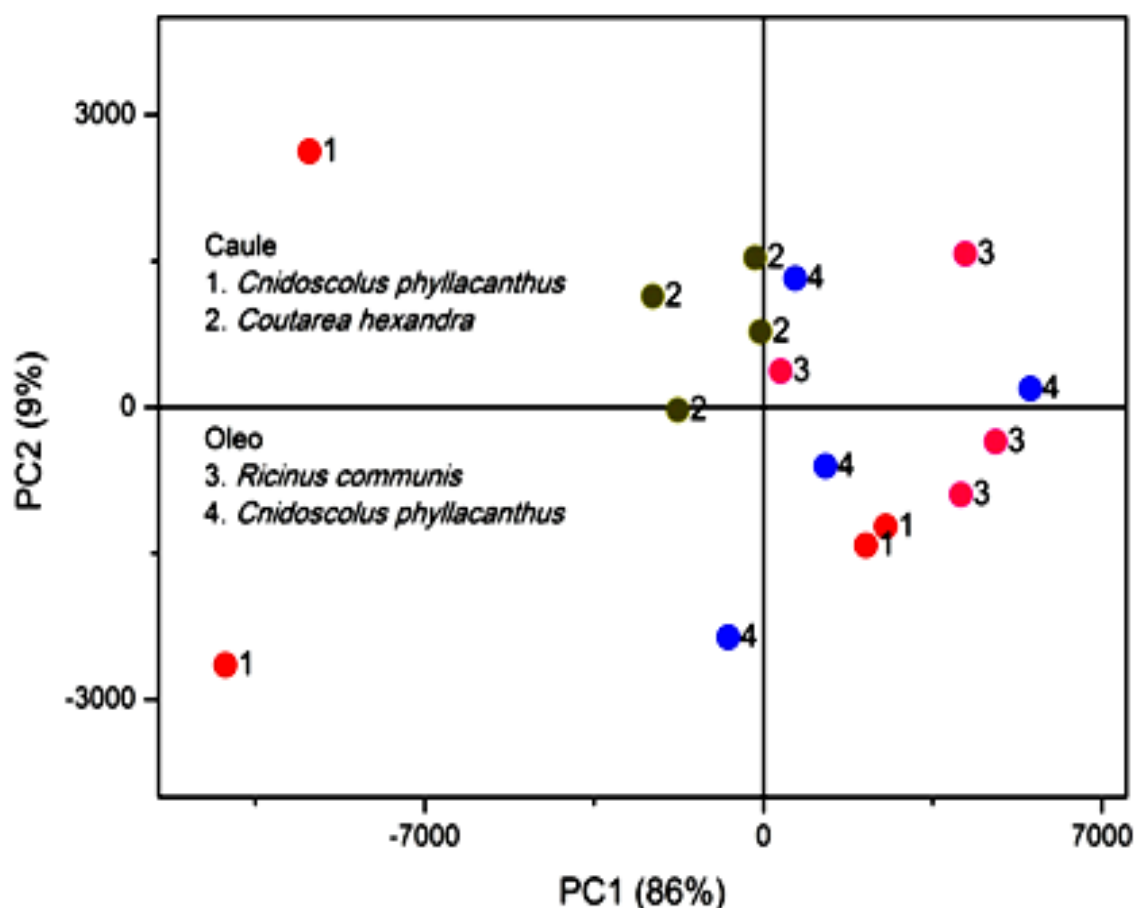


FIGURA 26. Gráfico dos escores para PC1 versus PC2 para as cinco concentrações testadas dos extratos vegetais após 24 horas de exposição das pupas de *Aedes aegypti*.

Na avaliação da atividade pupicida após 48 horas de tratamento houve aproximadamente 100% mortalidade das pupas para todas as concentrações e produtos, por esse motivo as amostras das repetições dos extratos não se diferenciaram sendo dispensável traçar uma PCA para esse teste.

Atividade pupicida dos extratos vegetais em função das concentrações e do tempo de exposição está graficamente ilustrada nas figuras 27 e 28.

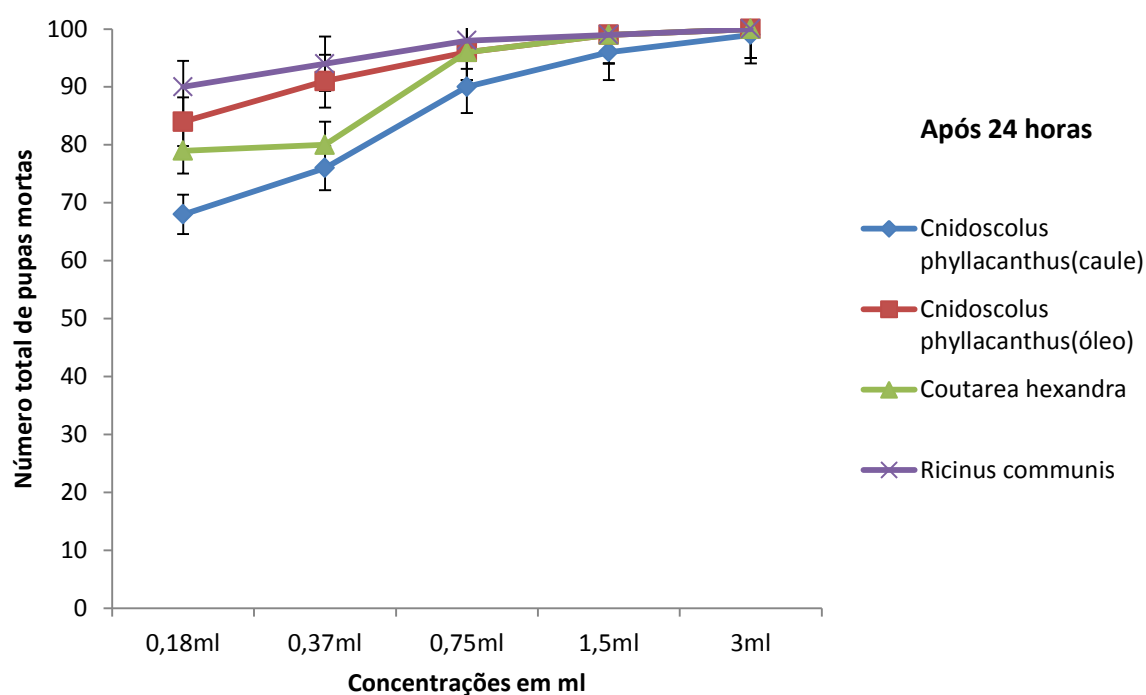


FIGURA 27. Ilustração gráfica da atividade pupicida dos produtos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 100 pupas. Desvio padrão (σ)=5%.

Ação pupicida dos produtos vegetais foi verificada a partir da concentração inicial de 0,18 ml, no qual todos os extratos apresentaram uma mortalidade superior a 65% após 24 horas de exposição aos extratos vegetais. A atividade mais evidente nessa dosagem foi obtida quando se avaliou os óleos vegetais de *C. phyllacanthus* e *R. communis* que demonstraram um eficiência de 84% e 88%, respectivamente. Esse

resultado está de acordo com o obtido pelo teste com larvas, no qual ambos os produtos apresentaram maior eficiência larvicida. Logo, entre os produtos avaliados, do ponto de vista quantitativo, os óleos extraídos das sementes de *C. phyllacanthus* e *R. communis* possui maior potencialidade no controle de larvas e pupas de *A. aegypti* (FIG. 27).

A partir da concentração de 0,75 ml verificou-se para os extratos de *C. phyllacanthus* (óleo), *C. hexandra* e *R. communis* uma mortalidade de pupas superior a 95%. A atividade pupicida foi mais significativa nas maiores dosagens 1,5 e 3 ml. Provavelmente, isso se deve ao fato das pupas estarem protegidas pela última exúvia larval, dificultando a ação dos extratos (MORAES, 2009). Essa barreira possivelmente seja rompida com a utilização de doses maiores. As concentrações de 1,5 e 3 ml apresentaram mortalidade de 100% após 24 horas de tratamento para todos os produtos com exceção do extrato do caule de *C. phyllacanthus* que a 1,5 ml obteve uma eficiência de 96%.

A diferença na atividade da dose de 0,37 ml para 0,75 ml foi bastante discreta para os óleos vegetais, apesar de ter ocorrido aumento na taxa de mortalidade. Entretanto, para os extratos brutos dos caules o aumento da concentração provocou um acréscimo de 12% na atividade pupicida de *C. phyllacanthus* e de 16% para *C. hexandra*. Esse resultado reforça o argumento de que o aumento da concentração diminui a resistência da exúvia larval presente nas pupas maximizando ação dos extratos. Esse fato também foi observado por Murugan; Murugan e Noortheen (2007) com extratos de *Albizzia amara* e *Ocimum basilicum* que obtiveram ação pupicida nas maiores concentração de 20.000 ppm a 100.000 ppm.

Com o aumento do tempo da exposição das pupas aos produtos vegetais as dosagens foram potencializadas intensificando a atividade pupicida das soluções. A figura abaixo que avalia a atividade dos extratos vegetais após 48 horas demonstra claramente o aumento da eficiência dos produtos estudados sobre o estágio de pupa do vetor da dengue.

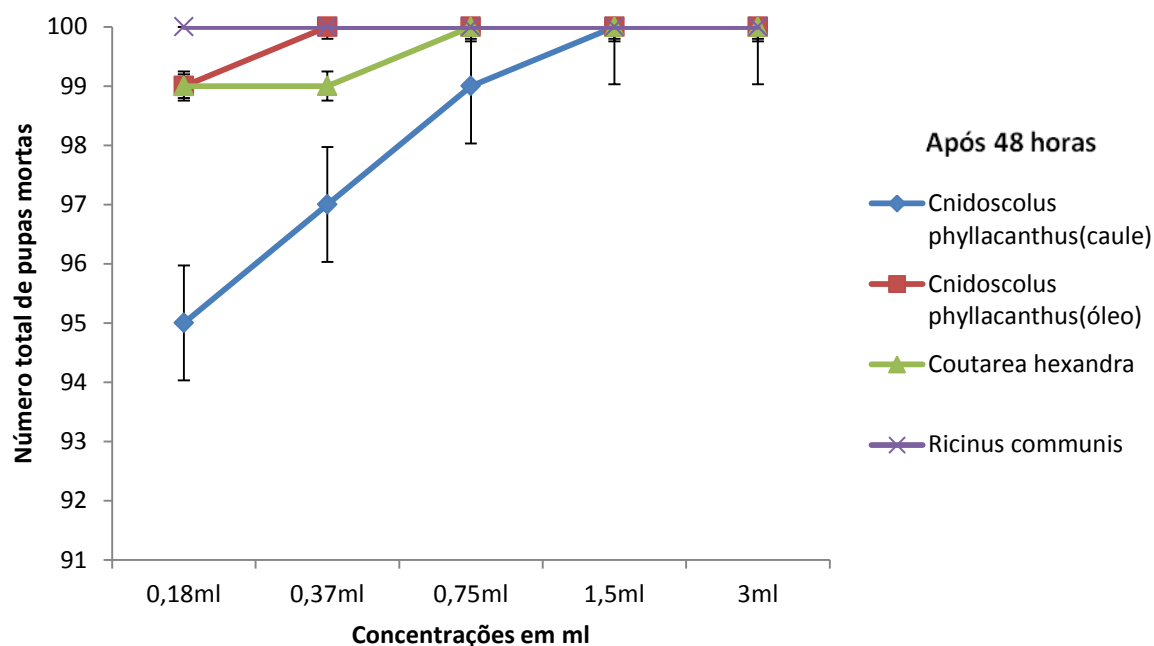


FIGURA 28. Ilustração gráfica da atividade pupicida dos produtos vegetais em função da concentração após 48 horas. Para cada tratamento havia 100 pupas. Desvio padrão (σ)=5%.

Comparando-se os resultados das FIG. 27 e 28, percebe-se claramente que na dose inicial de 0,18 ml para todos os extratos, verificou-se uma mortalidade acima de 90% correspondendo a um aumento mínimo da eficiência dos produtos em torno de 15%. Isso pode ser confirmado ao avaliar o efeito pupicida do extrato de *C. phyllacanthus* (caule) na dose de 0,18 ml após 24 horas que foi de 68%, e após o aumento da exposição para 48 horas apresentou uma eficiência de 92%.

Para os extratos de *R. communis*, *C. phyllacanthus* (óleo) e *C. hexandra* na concentração de 0,37 ml a ação pupicida foi de 100%, indicando que com o aumento da exposição aos produtos são necessários menores concentrações dos extratos vegetais para se obter uma atividade pupicida de 100%. Apenas para o extrato de *R. communis*, a menor dosagem (0,18ml) foi capaz de causar uma mortalidade de pupas de *A. aegypti* em torno de 100% após 48 horas de tratamento. Esse potencial pupicida verificado para o óleo vegetal da mamona, como já foi discutido no teste larvicida, deve-se provavelmente a presença do ácido ricinoléico. De acordo com (HEBLING, 1996), (BURG e MAYER, 1999), (SANTIAGO et al, 2008), (SISMEIRO et al., 2010) os produtos extraídos de *R. communis* agiu de forma negativa sobre diversas ordens de insetos.

Após 48 horas de exposição das pupas aos produtos vegetais, verificou-se a ocorrência de adultos. Para todas as concentrações e tratamentos estes se demonstraram susceptíveis aos extratos estudados, verificando-se mortalidade em todas as repetições. Essa mortalidade de adultos recém emergidos está relacionado com a ação de contato com os extratos vegetais, presentes nas soluções, sob o mosquito adulto. Desta forma, pode-se inferir que as soluções interferem negativamente na emergência dos adultos.

5.4 Efeito Sub Letal

O teste do efeito Sub Letal das substâncias vegetais testada neste estudo teve por objetivo analisar a ação das doses letais CL₅₀ e CL₉₀ diagnosticadas no teste larvicida, após 48 horas de exposição. Neste contexto, avaliou-se as CL₅₀ e CL₉₀ de *C. phyllacanthus* (óleo) e *R. communis* que foram respectivamente de 0,12 ml e 0,77 ml e de 0,02 ml e 0,12 ml (TAB. 4.)

TABELA 4. Tempo de duração dos experimentos do Efeito Sub Letal dos óleos vegetais de *Cnidocolus phyllacanthus* e *Ricinus communis* nas concentrações letais CL₅₀ e CL₉₀, apresentando o percentual das mortalidades larval, pupas, emergência de adultos e mortalidade de adultos de *A. aegypti*. Em cada tratamento havia 120 larvas L₃ desse vetor.

		Duração do Experimento (dias)	Mortalidade das larvas(%)	Mortalidade das pupas(%)	Emergência de adultos(%)	Mortalidade de adultos(%)
Extratos vegetais						
C.						
<i>phyllacanthus</i> (óleo)	CL ₅₀	28	84,1%	5%	10,9%	3,1%
	CL ₉₀	14	88,3%	5,8%	5,9%	5%
<i>R. communis</i> (óleo)	CL ₅₀	33	87,5%	0,8%	11,7%	1,6%
	CL ₉₀	24	93,3%	0,8%	5,9%	2,3%
Testemunha (ÁGUA)		35	4,1%	-----	95,9%	-----

Quando se avaliou o efeito Sub Letal com *C. phyllacanthus* (óleo) na concentração CL₅₀, verificou-se uma duração de 28 dias com uma mortalidade larvicida acumulada em ±84,1%. Durante todos estes dias, os indivíduos foram acompanhados e observado seu comportamento, se conseguiram desenvolver-se e atingir o estágio adulto, além, de se verificar a temperatura da água que durante todo o experimento ficou em torno de 22 °C. A concentração que se demonstrou mais eficiente alterando o ciclo de vida desse inseto e reduzindo o índice de emergência de adultos, entre os extratos testados, foi verificado para *C. phyllacanthus* (óleo) na dose CL₉₀. Para esse produto a duração do experimento foi de 14 dias, no qual das 120 larvas expostas a essa concentração, houve uma mortalidade de ±88,3%. A eficiência na redução da emergência de adultos e, conseqüentemente, diminuição no índice de infestação por esse vetor, pode ser comprovada ao verificar que nesta dosagem das ±11,7% de larvas que se transformaram em pupas apenas 0,9% tornaram-se adultos viáveis (TAB. 4).

Para a CL₅₀ de *C. phyllacanthus* das larvas que conseguiram desenvolver-se, 19 transformaram-se em pupas, porém ocorreu uma mortalidade de 5% ainda neste estágio, e apenas ±10,9% chegaram finalmente a adultos, no entanto desse percentual ±3,1% morreram neste estágio.

Os experimentos do efeito Sub Letal com *R. communis* na concentração CL₅₀ duraram cerca de 33 dias, já na concentração CL₉₀ duraram 24 dias. Nota-se que na concentração capaz de causar uma mortalidade 90% na população, houve uma redução no tempo de duração de larvas e pupas exposta a essa dosagem. Durante o tempo de exposição os indivíduos também foram acompanhados e observado seu comportamento se conseguiram atingir o estágio adulto. Na CL₅₀ do *R. communis*, ao final de 33 dias das 120 larvas exposta a taxa de mortalidade foi de ±87,5%. Entre as que conseguiram se desenvolver, 10 transformou-se em pupas com apenas uma morte registrada. O resultado permite inferir que na concentração (CL₅₀) o extrato de *R. communis* é mais eficiente sobre o estágio larval de *A. aegypti*, verificando-se o maior percentual de adultos emergidos (11,7%) com apenas ±1,6% de mortalidade neste estágio. Já no experimento da CL₉₀, ao final dos 24 dias, a mortalidade das larvas expostas foi de ±93,3%, o maior percentual larvicida obtida neste bioensaio. Esse resultado condiz com os bioensaios 6.2 e 6.3, em que a mamona se demonstrou mais eficiente no controle do *A. aegypti*. Contudo, ±6,7% se

desenvolveram em pupas e apenas uma morte foi registrada, além de 5,9% emergiram para adulto, do qual $\pm 2,3\%$ morreram ainda neste estágio.

No grupo controle, composto apenas por água destilada, os experimentos duraram 35 dias e houve apenas a mortalidade de 5 larvas ($\pm 4,1\%$). Caso a mortalidade do grupo controle estivesse entre 5% a 20%, esta seria reajustada pela fórmula de Abbott ou então descartado todo o experimento, segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1981[a,b]) (TAB. 4). Neste tratamento não houve mortalidade de pupas e adultos, verificando-se a emergência de 95,9% de adultos viáveis.

O estudo do efeito sub letal de compostos químicos naturais sobre espécimes de *A. aegypti* foram pesquisados por Shaalan et al. (2005), que avaliou o efeito de inseticidas sintéticos e extratos de *Callitris glaucophyllum* e a diversos inseticidas químicos por Adanan, Zaire e NG (2005); além de Aciole (2009) que testou óleos essenciais da Amazônia e Mata Atlântica, onde demonstraram que, mesmo não sendo fatal, estas concentrações sub letais conduzem a uma desordem na biologia do inseto, tanto morfológicamente quanto fisiologicamente, interferindo no tempo de duração do período larval e pupas expostas a essas concentrações, refletindo na emergência de adultos.

Em síntese, inferir-se que doses sub letais podem servir como uma alternativa na busca de novas estratégias de controle aos insetos vetores inibindo a resistência a inseticidas químicos sintéticos existentes. É de extrema relevância o desenvolvimento de pesquisas sobre o efeito Sub Letal de substâncias naturais e reforçar o interesse que estas podem acarretar a indústria.

5.5 Calibração do TWEEN 20.

Por se apresentarem, geralmente, na forma oleosa esses derivados dos produtos vegetais em estudo não solúveis em água após sua extração se fez necessário o uso de substâncias que possam atuar na solubilização para fins de estudos laboratoriais e bioensaios. Contudo, há diversos trabalhos que fazem o uso do emulsificante TWEEN 20 que tornam polares substâncias apolares.

A característica hidrofílica da cadeia de polioxietileno faz dos produtos da linha TWEEN, tensoativos hidrofílicos, geralmente, solúveis ou dispersíveis em água e empregados para obter emulsões do tipo óleo em água (O/A), como dispersantes ou solubilizantes de óleos. Portanto, é amplamente usado nas áreas médicas e farmacológicas. Não há estudos detalhados a respeito dos seus efeitos em humanos. O que se sabe, sob condições normais de uso, que sua toxicidade é muita baixa, não tendo conhecimento sobre seus efeitos tóxicos agudos (EMFAL, 2007).

Entretanto, por se tratar de um composto químico sintético, surgiu a preocupação se este solvente poderia interferir nos resultados de mortalidade de larvas, pupas e ovos no presente estudo. Desta forma, paralelamente a execução dos bioensaios, realizou-se a calibração do produto em concentrações de 0,18, 0,37, 0,75, 1,5 ml e 3 ml, e após calibração e análise de Probit, verificou-se que de fato a utilização deste a 3 ml, concentração máxima em relação ao volume total de 200 ml utilizados nos bioensaios e após 24 e 48 horas de tratamento, não causou mortalidade em larvas. Não foi possível diagnosticar as concentrações capazes de matar 50% e 90% da população (TAB. 5). Este resultado torna os dados do presente estudo, em relação ao efeito dos produtos vegetais sobre os diferentes estágios do *A. aegypti*, mais confiáveis, já que foi possível comprovar que o emulsificante TWEEN 20, nestas concentrações, não interferiu nos resultados dos bioensaios com larvas, pupas e ovos de *A. aegypti*.

Na literatura não foi possível encontrar trabalhos que utilizem concentrações semelhantes a este estudo, embora também seja possível encontrar aqueles trabalhos que utilizem concentrações relativamente elevadas de TWEEN sobre outras ordens de insetos (SENHORINI,2007).

Neste contexto, em estudos dessa natureza é extremamente importante realizar a calibração do solvente utilizado, a fim de elucidar que seu uso não está a contribuir com a mortalidade, e o resultado verificado seja atribuído somente aos produtos vegetais.

TABELA 5- Análise de Probit da calibração do TWEEN 20, para averiguação ação larvicida.

		TWEEN 20 (ml)
24 horas	CL ₅₀
	CL ₉₀
	x ²
	Slope	0,00±1674...
48 horas	CL ₅₀
	CL ₉₀
	x ²	18
	Slope	0,07±0,399

5.6 Efeito adulticida dos extratos vegetais sobre *Aedes aegypti*

Os extratos dos óleos vegetais e do caule de *C. phyllacanthus*, *C. hexandra* e *R. communis* foram impregnados em papel filtro e testado com fêmeas adultas de *A. aegypti* para verificação da mortalidade.

Todos os extratos na dosagem de 1 ml para óleos vegetais e de 100 mg para os extratos brutos apresentaram atividade adulticida, com destaque para o extrato de *C. phyllacanthus* (óleo), com uma mortalidade de 33,3%. Em seguida, dos 30 adultos de *A. aegypti* exposto as soluções, o extrato de *R. communis* demonstrou uma atividade adulticida em torno de 26,6% (FIG. 29).

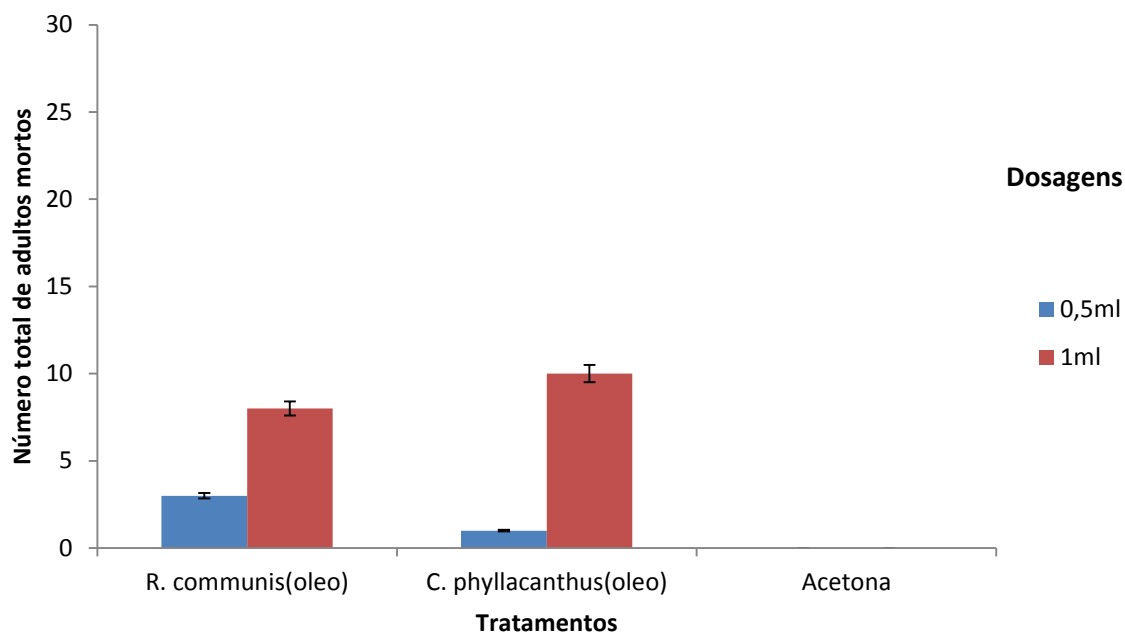


FIGURA 29. Ilustração gráfica da atividade aduicida dos óleos vegetais em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 30 adultos de *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%.

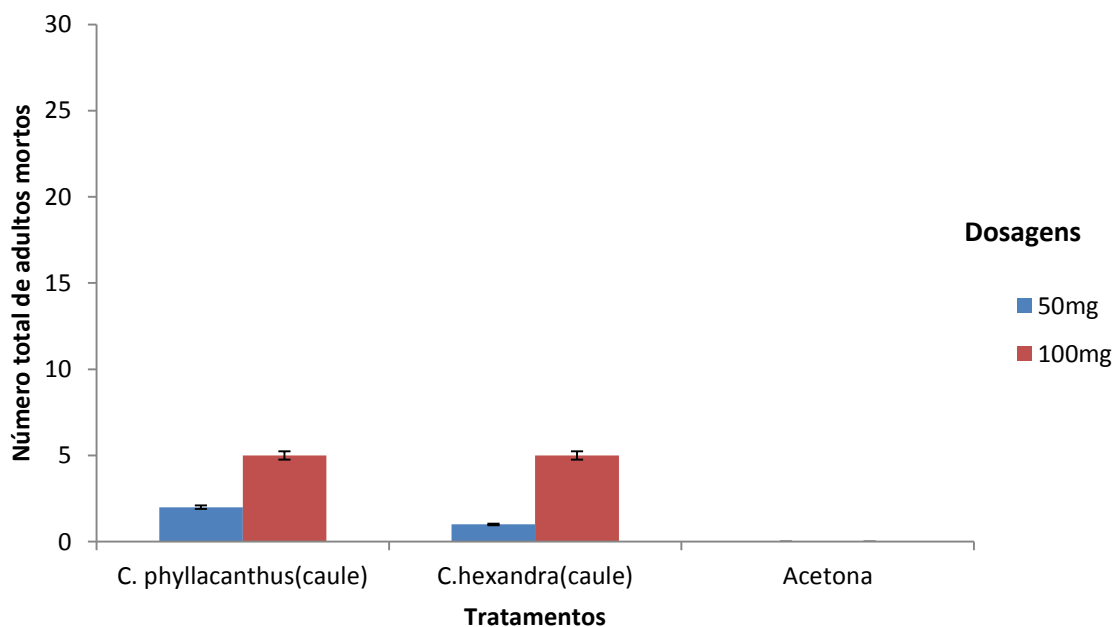


FIGURA 30. Ilustração gráfica da atividade aduicida dos extratos brutos em função da concentração após 24 horas. Para cada tratamento havia 30 adultos de *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%.

Considerando o estudo feito com os extratos brutos de *C. phyllacanthus* e *C. hexandra* a 100 mg, pode-se perceber uma similaridade no comportamento adulticida desses produtos, já que ambos apresentaram o mesmo percentual adulticida (16,6%). O fato de se tratar de produtos extraídos do caule de duas espécies distintas não desconsidera-se a natureza química dos metabólitos secundários de origem do caule, que de alguma forma nestes vegetais atuaram de forma semelhante sobre as fêmeas de *A. aegypti* (FIG. 30).

Nas doses de 0,5 ml e de 50 mg, para todos os tratamentos a atividade adulticida não diferiu significativamente do controle, apresentando uma mortalidade inferior a 10%. Nestas concentrações os extratos da semente de *C. phyllacanthus* e do caule de *C. hexandra* demonstraram baixa toxicidade, com apenas um inseto morto (3,3%). O comportamento adulticida de *R. communis* e *C. phyllacanthus* (caule), nas concentrações de 0,5ml e 50mg, respectivamente, também foram ineficaz no controle de insetos adultos de *A. aegypti*, com um percentual em torno de 10% e 6,6% (FIG. 29 e 30). Moraes (2009) ao estudar o efeito do extrato de *A. coriacea* também verificou baixa atividade adulticida sobre *A. aegypti*, obtendo na maior concentração 1000 ppm uma mortalidade de apenas 6,6% enquanto que nas demais concentrações foi inferior a 5%.

Para o controle, fez-se uso da acetona, solvente orgânico, facilmente volátil, e de grande emprego na indústria farmacêutica. Devido aos seus efeitos tóxicos a longo prazo houve a necessidade de se avaliar seus efeitos sobre os adultos de *A. aegypti*. Contudo, não houve mortalidade de adultos na dose 0,2 ml de acetona, dose esta utilizada com os produtos vegetais, indicando nenhuma interferência desse solvente nos resultados acima descrito. O controle sem solução também demonstrou ausência de mortalidade.

A pouca atividade de compostos naturais de plantas sobre adultos de *A. aegypti* foi descrita por Teixeira (2003), que mesmo na dose de 1g não verificou alterações comportamentais dos mosquitos após 24 horas de exposição, nem a morte de nenhuma fêmea.

Numa comparação geral envolvendo os bioensaios, pode-se observar que os extratos de *C. phyllacanthus* (óleo) e *R. communis* demonstraram uma mortalidade de larvas, pupas e adultos de *A. aegypti* enquanto *C. hexandra*, apenas em pupas e adultos recém-emergidos. Aguilera et al. (2003) e Luna et al. (2004) verificaram que o efeito do extrato sobre as diferentes fases do *A. aegypti* pode está relacionado

com a tolerância da fase biológica desse mosquito, ao mecanismo do extrato, além dos métodos e das concentrações utilizadas.

5.7 Efeito de repelência dos extratos de *Ricinus communis* e *Cnidocolus phyllacanthus* (óleo) em fêmeas de *Aedes aegypti* sobre substrato de oviposição

Os testes de preferência para oviposição de *A. aegypti* utilizando as concentrações letais obtidas após 24 horas de tratamento pelo bioensaio larvicida (CL₅₀ e CL₉₀), demonstraram um comportamento, significativamente, diferente entre os tratamentos e o grupo controle (água).

5.7.1 Atividade de repelência para oviposição de múltipla escolha.

O bioensaio para verificar a preferência do *A. aegypti* sobre sítios de oviposição foi avaliado considerando um delineamento experimental em blocos ao acaso. O delineamento em blocos casualizados é utilizado quando as unidades experimentais não são homogêneas, mas podem ser agrupadas em grupos homogêneos chamados de blocos, contendo em cada grupo, normalmente uma repetição de cada tratamento (BCC), (CALLEGARI-JACQUES, 2003). No presente estudo para cada repetição (grupo) havia, simultaneamente, três opções de substrato de oviposição (tratamentos), nas mesmas condições, para fêmeas de *A. aegypti*, onde foi verificada a preferência desses mosquitos para realizar as posturas.

Ao avaliar os substratos de oviposição (CL₅₀, CL₉₀ e água) nos blocos referente ao extrato de *R. communis*, observou-se que nessas condições as fêmeas desse vetor dar preferência a depositar seus ovos no tratamento que continha apenas água destilada, do qual foram contabilizados 457 ovos. Corroborou-se a esse resultado ao avaliar o p-valor= 0,009 < 0,05, que rejeita a hipótese nula (H⁰) aceitando a hipótese alternativa (H^a), ou seja, existe uma diferença significativa entre as médias dos extratos. Assim, observa-se que no teste de múltipla escolha para o extrato da mamona o mosquito seleciona o sitio de oviposição dependendo do tipo de substrato

(CL₅₀, CL₉₀ e água). Nesse tratamento apenas em um grupo foi verificada a presença de 12 ovos, na CL₅₀ desse extrato. No entanto, apesar desse resultado, essa concentração demonstrou repelência com IOA de -0,9 (TAB. 6). Para todos os blocos as CL₉₀ de *R. communis* demonstraram ação deterrente para oviposição de *A. aegypti*, sendo comprovado através do IOA= -1, onde não foram verificadas nenhuma postura (FIG. 31).

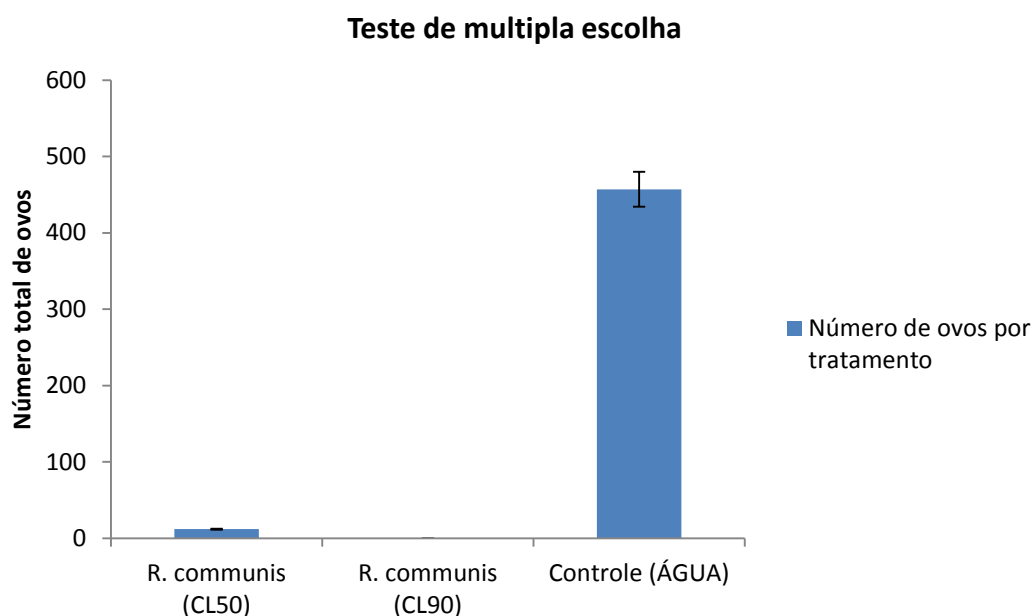


FIGURA 31. Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Ricinus communis* em testes com múltipla escolha. Desvio padrão (σ)=5%.

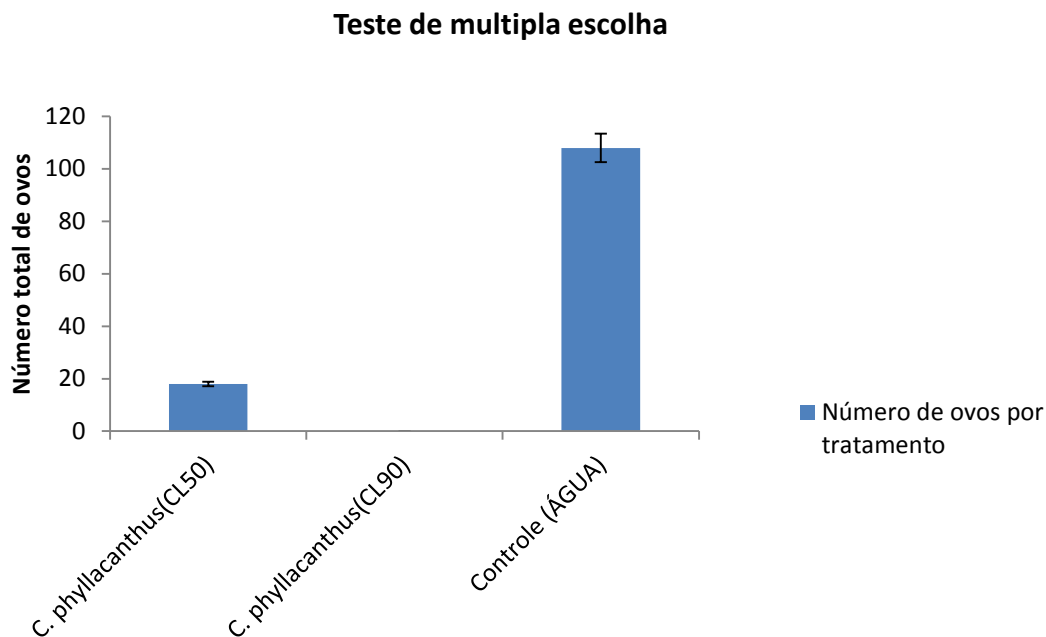


FIGURA 32. Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Cnidocolus phyllacanthus* (óleo), em testes com múltipla escolha. Desvio padrão (σ)=5%.

A figura 32 expressa o resultado de múltipla escolha para oviposição em substratos contendo as soluções de *C. phyllacanthus* (óleo), e demonstra que nesse experimento houve um comportamento similar ao obtido com teste utilizando *R. communis*. Porém, o número de ovos na solução teste foi maior indicando pouca influência desse extrato como repelente para oviposição de mosquito. O p-valor= 0,60 > 0,05 contribui com essa afirmação, já que não rejeita a hipótese nula (H^0) ao nível de significância de 5%, indicando que não existe uma diferença significativa entre as médias dos substratos (TAB. 6). Logo, no teste de múltipla escolha tendo como substrato as concentrações letais de *C. phyllacanthus* não há uma preferência acentuada do mosquito para depositar seus ovos dependendo do tipo de substrato.

Assim como no teste anterior, também ocorreu a presença de ovos no tratamento com a CL₅₀ para o *C. phyllacanthus*, com a diferença que nesse foram em dois

blocos. Apesar da diferença entre as médias verificadas pelo teste de Friedman (TAB. 6) para o extrato da faveleira, não invalida a bioatividade deterrente desse produto frente as fêmeas de *A. aegypti*, comprovada através da significativa diferença entre o número de ovos da solução teste em relação ao do controle, além do valor do IOA= -0,7. Comportamento semelhante foi verificado também com a CL₉₀ que assim como no teste com *R. communis*, para todos os blocos exerceu ação repelente inibindo a oviposição desse mosquito, sendo IOA= -1 (TAB. 6).

TABELA 6. Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos extratos vegetais com múltipla escolha através do teste de Friedman ($\alpha=0,05$), com respectivo qui-quadrado(x^2), grau de liberdade(g.l),médias individuais e IOA .

	<i>R.communis</i> (óleo)	<i>C.phyllacanthus</i>
Média CL ₅₀	1,78	1,94
Média CL ₉₀	1,67	1,72
Média (água)	2,56	2,33
X ²	9,50	5,63
g.l	2	2
IOA	CL ₅₀ =-0,9 CL ₉₀ =-1	CL ₅₀ =-0,7 CL ₉₀ =-1
*p-valor	0,009	0,06

*Se o p-valor for <0,05 rejeita a hipótese nula (H⁰).

Os resultados dos IOA para o teste de múltipla escolha, tanto para *R. communis* quanto para *C. phyllacanthus* (óleo) foram valores negativos. Segundo Hwang et al. (2003), o IOA, vai de -1 a +1. Os valores positivos indicam uma atração ou uma estimulação á oviposição, enquanto que os valores negativos indicam uma repelência ou ação deterrente a oviposição. Ainda de acordo com esse mesmo autor os valores positivos, igual ou superior a +0.3 indicam que o material é atraente, enquanto os valores negativos ou inferiores a -0,3 indicam repelência.

O resultado promissor obtido pelo teste com *R. communis* permite inferir que a fêmea para garantir a perpetuação da espécie seleciona as melhores condições para depositar seus ovos o que não se aplica ao extrato em questão. Gajmer et al.(2002) avaliando o efeito de extratos metanólicos de sementes de *A. indica* e *M. azedarach* no comportamento de oviposição de *Earias vittella* (Fab.) (Lepidoptera,

Noctudae), observaram que nos teste de múltipla escolha, os adultos preferiam colocar um número maior de ovos no tratamento sem solução teste.

5.7.2 Atividade de repelência para oviposição sem chance de escolha

O experimento sem preferência de sítios de oviposição seguiu um delineamento experimental inteiramente casualizado. Este se caracteriza por não impor nenhuma restrição aos tratamentos. Neste caso, todos os tratamentos têm a mesma chance de ocupar qualquer unidade experimental ou parcela, sendo considerados homogêneos (CALLEGARI-JACQUES, 2003). Neste bioensaio para cada repetição havia apenas um substrato de oviposição para os mosquitos fêmeas de *A. aegypti* do qual foi verificado o comportamento de oviposição desse vetor.

A repelência dos extratos vegetais sobre o comportamento de oviposição do transmissor da dengue no teste sem chance de escolha seguiu a mesma linha do teste de múltipla escolha. Porém, diminuiu a distância entre o número de ovos depositados no tratamento teste em relação ao encontrado no grupo controle. Observa-se que para todos os tratamentos há presença de ovos mesmo na concentração CL₉₀, excluída pelos mosquitos no teste de múltipla escolha. Esse resultado mostra que a repelência dos produtos vegetais no presente estudo em teste de chance, está associado à capacidade do inseto detectar os extratos vegetais através do olfato, evitando-os quando tem chance de escolha. A tabela 7 representa esse resultado ao observar o p-valor= 0,77 > 0,05, neste sentido, não rejeitamos a hipótese nula (H⁰) ao nível de significância de 5%, ou seja, não existe diferença entre as médias dos tratamentos. Dessa forma, concluir-se que na ausência de escolha o extrato de mamona não exerce ação repelente e o mosquito deposita seus ovos independentes do tipo de substrato (CL₅₀, CL₉₀ e água).

Contudo, o número de ovos do grupo controle foi mais de 70% superior ao verificado pela CL₅₀ e em mais de 60% pela CL₉₀ para *R. communis* (FIG. 38). Ao avaliar o comportamento de oviposição de *A.aegypti* ao óleo vegetal de *R. communis* na concentração CL₉₀, verificou-se, apesar do maior número de ovos, maior repelência que a CL₅₀, confirmado através do IOA que para a CL₅₀ foi de -0,5 e para CL₉₀ de -0,4 (TAB. 7).

TABELA 7. Análise da comparação das médias do teste de repelência de oviposição dos extratos vegetais sem chance de escolha através do teste de kruskal-Wallis $\alpha=0,05$, com respectivo qui-quadrado(x^2), grau de liberdade(g.l),médias individuais e IOA .

	<i>R.communis</i> (óleo)	<i>C.phyllacanthus</i>
Média CL ₅₀	14,5	12,7
Média CL ₉₀	12,7	14,7
Média (água)	14,7	14,5
X ²	0,505	0,500
g.l	2	2
IOA	CL ₅₀ =-0,5 CL ₉₀ =-0,4	CL ₅₀ =-0,1 CL ₉₀ =-0,4
*p-valor	0,77	0,77

*Se o p-valor for <0,05 rejeita a hipótese nula (H⁰).

Ocorreu semelhança de comportamento entre os substratos de *R. communis* e *C. phyllacanthus* (óleo), no teste de repelência de oviposição sem chance de escolha. Ao observa o p-valor=0,77>0,05 verificado para faveleira, concluir-se que para esse produto as fêmeas de *A. aegypti* depositam seus ovos independentes do tipo de substrato. Observa-se que nessas mesmas condições, há também um número maior de ovos nos grupos teste em relação aos resultados obtidos com esse tratamento no teste de múltipla escolha (FIG. 34).

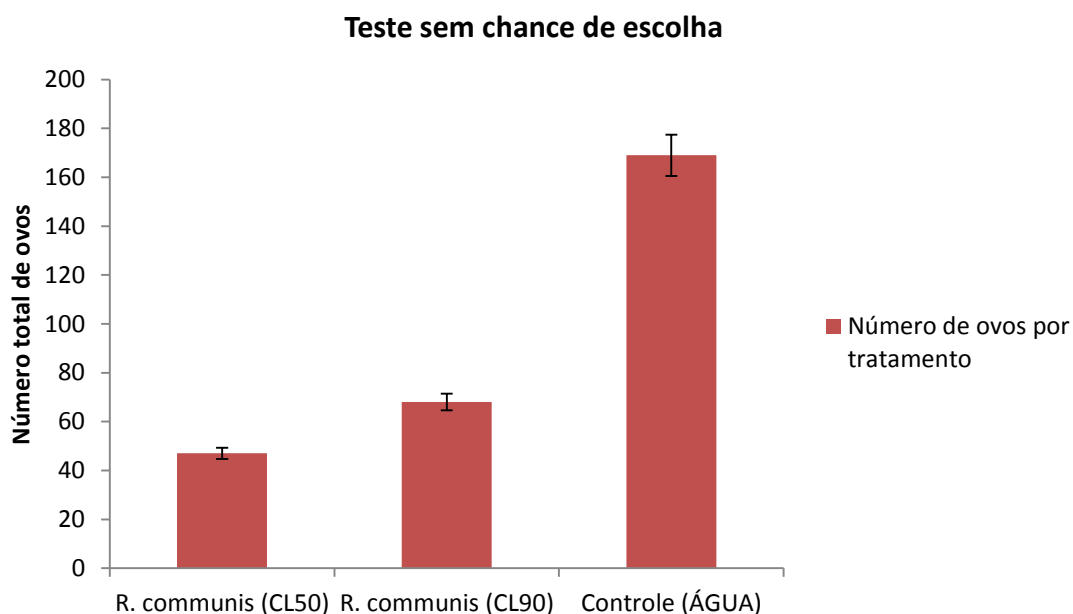


FIGURA 33. Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Ricinus communis* em teste sem chance de escolha. Desvio padrão (σ)=5%.

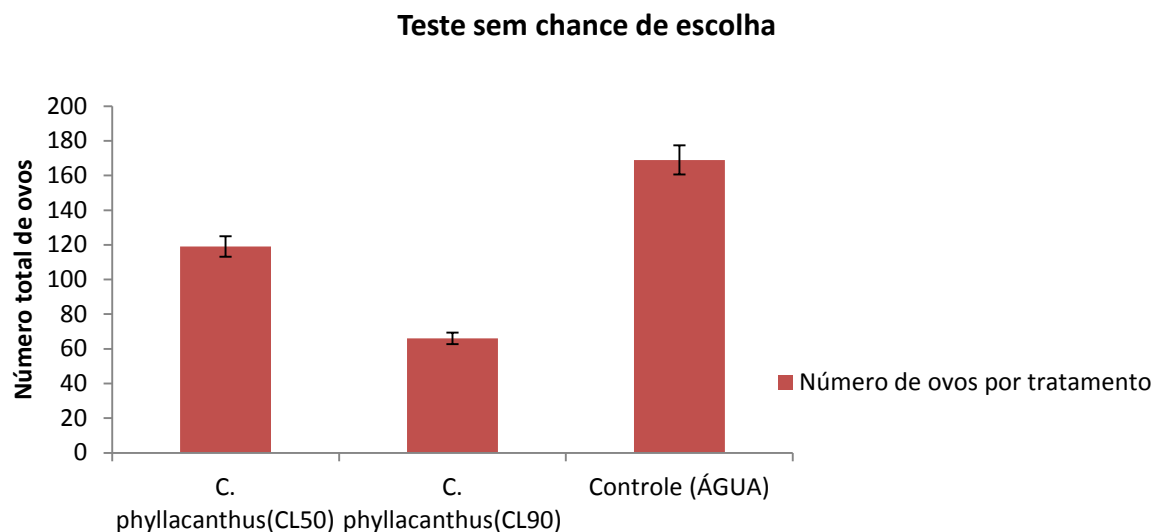


FIGURA 34. Resposta de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* na presença das concentrações de *Cnidioscolus phyllacanthus* (óleo) em teste sem chance de escolha. Desvio padrão (σ)=5%.

Apesar da presença de ovos no grupo teste, a CL₅₀ e CL₉₀ de *C. phyllacanthus* indicam atividade repelente para oviposição desse inseto, já que obtiveram IOA, respectivamente, de -0,1 e -0,4 (TAB. 7). As FIG. 31, 32, 33 e 34 mostram que no tratamento em que *A. aegypti* tinha alternativa de escolha, a diferença do número de ovos foi bem maior do que no teste sem preferência. Chen et al.(1996) observaram que a oviposição de *Plutella xylostella*(L.) (Lepidoptera, Acrolepiidae) foi reduzida pela presença do extrato aquoso de frutos de *M. azedarach* em 49,6%;86,6% e 93,5%, em teste com chance de escolha e, em 46,2%; 72,1% e 80,2%, em teste sem chance de escolha. Os resultados indicam semelhança de oviposição entre a espécie deste estudo e *P. xylostella*, devido à interferência dos extratos vegetais usados nos bioensaios.

Outros pesquisadores avaliaram ação repelente ou deterrente de plantas sobre outros grupos de insetos, entre eles: Nathan et al. (2005), testando o efeito de

extratos metanólicos de folhas de sementes de *M. azedarach* sobre adultos de *Anopheles stephensi* Liston (Diptera, Culicidae) em laboratório, e constataram uma forte atividade de anti-oviposição e repelência contra as picadas. Estudando o efeito de diversos extratos aquosos em relação à preferência para oviposição de *P. xylostella* em discos de folhas de couve, Medeiros et al. (2005) constataram que os extratos proporcionaram efeito deterrente na oviposição da praga, com destaque para os extratos de frutos de *Sapindus saponaria* L.60 (Sapindaceae), de frutos de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) (Fabaceae) e folhas de *Trichilia pallida* Sw. (Meliaceae), com índice de 100% de deterrência. Torres et al.(2006), avaliando o efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição *P. xylostella*, verificaram que o extrato aquoso da casca de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Apocynaceae) apresentou repelência superior aos extratos de frutos de *M. azedarach* e o de amêndoa de *Azadirachta indica*.

Na literatura são escassos os trabalhos sobre repelência de oviposição em *A. aegypti*, sendo mais comumente encontrado trabalhos sobre atraentes para oviposição. Neste sentido, a discussão foi fundamentada na potencialidade de produtos naturais como repelente para oviposição de insetos. De modo geral, quanto maior a repelência, menor será a infestação resultando na redução ou supressão das posturas e, conseqüentemente, do número de insetos.

5.8 Atividade ovicida dos óleos vegetais de *Ricinus communis* e *Cnidioscolus phyllacanthus* sobre *Aedes aegypti*

A influência dos óleos vegetais sobre o desenvolvimento embrionário de ovos de *A. aegypti*, efeito ovicida, foi avaliada durante dez dias verificando-se a taxa de eclosão. O estudo feito com as CL₅₀ e CL₉₀ do extrato de *R. communis*, após 24 horas de exposição ao produto vegetal, demonstrou uma taxa de eclosão de 21% e 33,5%, respectivamente. Esse resultado diferiu quantitativamente em relação à testemunha (água), com taxa de eclosão obtida, após o mesmo período de apenas 19% indicando pouca ou nenhuma influência negativa das doses de *R. communis* na embriogênese dos ovos desse vetor.

A atividade ovicida das doses letais *C. phyllacanthus* (óleo) sobre ovos desse mosquito de *A. aegypti* durante 24 horas de estudo foi ausente. A taxa de eclosão

obtida para CL_{90} desse produto foi a maior entre os tratamentos (59,5%), superando em mais de três vezes o valor verificado pela taxa de eclosão na água. Esse resultado permite inferir que esse produto agiu de forma positiva na eclosão de larvas de *A. aegypti*. O emulsificante TWEEN 20 utilizado como controle e, fez-se uso dos maiores valores das CL_{50} e CL_{90} , referentes aos produtos vegetais para avaliar sua influência nesse bioensaio. Os resultados obtidos com o TWEEN 20, após o primeiro dia de estudo, foi próximo ao verificado pela a testemunha, principalmente, em relação a CL_{50} , cuja a taxa de eclosão foi de 16,5%, indicando um comportamento similar ao tratamento sem as soluções. Este resultado exclui a hipótese de interferência negativa dessa substância no processo de eclosão de larvas desse vetor.

As figuras 35,36 e 37 expressam, o comportamento distinto na taxa de eclosão de larvas de *A. aegypti* em função dos ovos expostos as doses letais dos extratos de *R. communis* e *C. phyllacanthus*, durante 10 dias de tratamento.

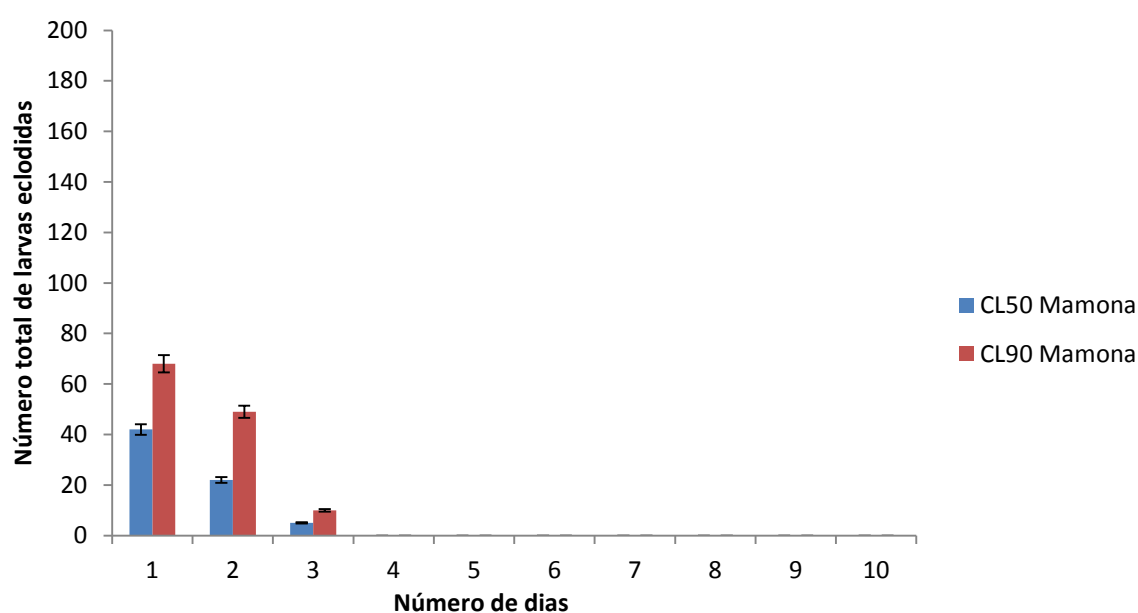


FIGURA 35. Período de atividade ovicida de *Ricinus communis* sobre *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%.

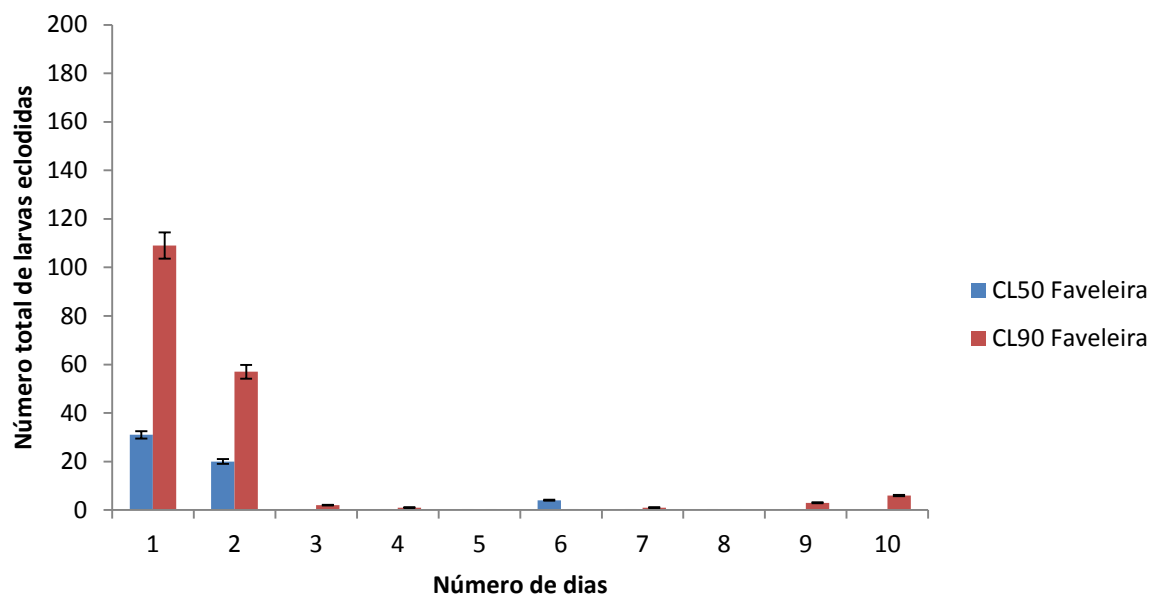


FIGURA 36. Período de atividade ovicida de *Cnidoscopus phyllacanthus* sobre *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ)=5%.

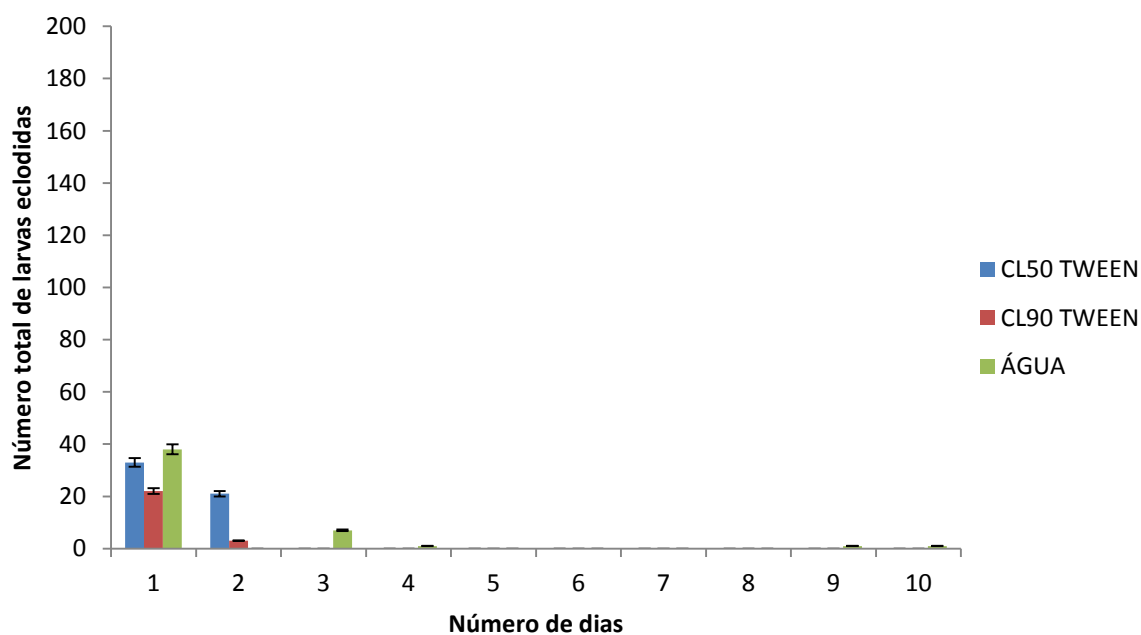


FIGURA 37. Período de atividade ovicida do controle (Tween 20) e da testemunha (água) sobre *Aedes aegypti*. Desvio padrão (σ) =5%.

O período de atividade ovicida das doses letais de *R. communis* resultou em três dias de eclosão de larvas, tanto para CL₅₀ quanto para CL₉₀ obtendo nesse último uma taxa de eclosão de mais de 60% em três dias. Desconsidera-se, portanto, a influência desse produto sobre a viabilidade de ovos de *A. aegypti*, já que a maior concentração do produto ao invés de interferir na embriogênese de ovos desse mosquito, se comparado ao verificado pela testemunha (24% em 10 dias), aumentou a taxa de eclosão em um menor número de dias descaracterizando esse vegetal como ovicida (FIG. 35).

Quando se avaliou o período de atividade ovicida de *C. phyllacanthus*, verificou-se seis dias de eclosão para CL₅₀ e dez dias para CL₉₀. Assim como no bioensaio com óleo de mamona, a maior dosagem (CL₉₀) também apresentou maior taxa de eclosão (95%), reforçando a ideia de que de alguma maneira esses vegetais, nessas concentrações, interferem positivamente no processo de eclosão de larvas de *A. aegypti* díptero (FIG. 36).

Para o emulsificante (Tween 20) a análise demonstrou um período de eclosão larval de dois dias, tanto para CL₅₀ quanto para CL₉₀. Obteve-se, em 48 horas, uma taxa de eclosão de 27% para CL₅₀ e de 12% para CL₉₀, sendo este último, a menor taxa de eclosão obtida entre os tratamentos, demonstrando interferência negativa do produto na taxa de eclosão de *A. aegypti*, provavelmente, causando mortalidade embriológica (FIG. 37).

Os resultados acima foram pouco significativos sobre a influência dos extratos vegetais na embriogênese dos ovos de *A. aegypti*, possivelmente devido ao ovo ser o estágio do ciclo de vida desse vetor mais resistente as adversidades ambientais, necessitando de dosagens maiores que as utilizadas sobre larvas para se obter um efeito ovicida. Segundo Rezende et al. (2008) existem fatores genéticos e bioquímicos que favorecem esse mecanismo de resistência, como a formação de uma cutícula serosa constituída por quitina e a existência de expressão gênica, relacionada tanto com a produção de quitina quanto de lipídeos importantes para o processo de impermeabilização.

São poucos os estudos que avaliam o efeito de produtos vegetais sobre ovos de *A. aegypti*, entretanto, Quirino (2010) avaliou o efeito ovicida de *Nicotiana tabacum* sobre esse vetor e obteve uma taxa de eclosão maior que 50% tanto para CL₅₀ quanto para CL₉₀ sendo, respectivamente, de 71% e 79%. Esse resultado é similar ao resultado do presente estudo, com baixa mortalidade do embrião e elevadas

taxas de eclosão. No entanto, pesquisa realizada por Corio et al, 2007, verificando o efeito dos extratos obtidos das folhas e dos frutos de *M. azedarach* sobre o *A. aegypti* verificaram uma atividade tanto larvicida quanto ovicida, sendo esperado já que esse vegetal possui diversos estudos promissores sobre sua atividade inseticida em diversos grupos de insetos.

A característica de resistência dos ovos desse inseto as adversidades ambientais, além da carência de pesquisas que avaliem o efeito de extratos vegetais sobre ovos desse mosquito, torna o *A. aegypti* importante epidemiologicamente falando, pois esses fatores maximizam a distância de um controle eficiente desse vetor pelos órgãos públicos de saúde.

Por ser um problema de saúde pública, a busca de novas alternativas de controle de insetos vetores tem importantes implicações, uma vez que podem reduzir o impacto ambiental gerado pelo uso demorado de inseticidas sintéticos, além de gerar novas ferramentas para combater a proliferação desses mosquitos reduzindo os índices de epidemia. Por esse motivo, aplica-se estudos com extratos vegetais e seus componentes secundários sobre o ciclo de vida do *A. aegypti*, e a gênese de informações sobre seu provável efeito inseticida.

CONCLUSÃO

Todos os extratos vegetais interferiram negativamente em pelo menos algum estágio do ciclo de vida de *Aedes aegypti*.

Os óleos vegetais de *C. phyllacanthus* e *R. communis* demonstraram toxicidade ao estágio larval de terceiro instar de *A. aegypti*.

O estágio de pupa de *A. aegypti* demonstrou ser susceptível a todos os extratos vegetais avaliados.

As concentrações letais CL₅₀ e CL₉₀ de *C. phyllacanthus* e *R. communis* alteraram o ciclo de vida do *A. aegypti* reduzindo o índice de emergência de adultos.

O emulsificante TWEEN 20 não causou mortalidade em larvas de terceiro instar de *A. aegypti*.

Os extratos de *C. phyllacanthus* (óleo) e *R. communis* causou mortalidade significativa em adultos de *A. aegypti*.

Através do IOA, todos os produtos demonstraram ação repelente na oviposição de fêmeas de *A. aegypti*.

As doses letais CL₅₀ e CL₉₀ não influenciaram na viabilidade de ovos desse mosquito, descaracterizando a atividade ovicida.

REFERÊNCIAS

ACIOLE, Sullamy Dayse Gomes. **Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como alternativa de controle as larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: culicidae)**. Dissertação. Mestrado em Biologia Humana e Ambiente.FCUL, p.86, 2009.

ADANAN, C.R.;ZAIRE,J. e NG,K.H. **Efficacy sublethal effects of mosquito mats on *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae)**. Proceedings of the fifth International Conference on Urban Pests. 265-269, 2005.

AGRA, Maria de Fátima. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos**. João Pessoa-Paraíba, Brasil: União, p.62, 1996.

AGRELO, R. S. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* (Díptera, Culicidae) y su papel como vectores em lãs américas. La situación de Uruguay. 1996. p.78. Disponible em: <http://www.cepes.ops-oms.org/brsoir/repimindex/repi78/ref.pdf>.

AGUILERA, L.; NAVARRO,A.; TACORONTE,J.E.; LEYVA,M.; MARQUETTI,M.C. Efecto letal de *Myrtaceas cubenas* sobre *Aedes aegypti* (Diptero;Culicideo).**Revista Cubana Medicina Tropical**.55:p.100-4, 2003.

ALMEIDA, F.R.C.; RAO, V.S.N.; GADELHA, M.G.T.; MATOS, F.J.A. Estudo sobre a atividade de antifertilizante de *Coutarea hexandra* Schum. Em ratos. **Rev. Bras.Farm.**, 71; p.69-71, 1990.

ANDRADE-LIMA, Dárdamo de. **Plantas da Caatinga**. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, Gráfica A Tribuna de Santos Ltda., 1989.

AQUINO, R.; DAGOSTINO,M.; DESIMONE,F.; PIZZA, C. Plant metabolites *Arylcoumarin glycosids* from *Coutarea hexandra*. **Phytochemistry**. 27, p.1827-1830, 1988.

AUGUSTO, L.G.S. et al. Avaliação crítica do programa de erradicação do *Aedes Aegypti*: Contribuições técnicas para medidas de controle. **Revista do IMIP**. v. 14 (1) p.90-97, 2000.

AUGUSTO L.G.S. e CÂMARA N.H.F. Dengue: insustentabilidade do PEAa. In: **Congresso interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental XXVII**, p 1-5, 2003.

BARATA, E.A.M.F.et al. População de *Aedes aegypti* (1) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v 35, n 3, p. 237-42, 2001.

BARRETO, Cleyde Ferreira. *Aedes aegypti*-Resistencia aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica:Faculdade Montes Belos,Goiás**.ISSN 1808-8597,V.1,N.2,p.62-73,Nov.2005.

BELTRÃO, N. E. M. et al.O agronegócio da Mamona no Brasil. Brasília-DF: **Embrapa Informação Tecnológica**,p.37-61, 2001.

BESERRA, E. B. et al. Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba.**Neotropical Entomology**, v.36, n. 2,p. 303-307,2007.

BEZERRA, Gilson Eduardo. Favela – Seu aproveitamento como forrageira. **Revista Boletim técnico**. Fortaleza, v.30, n.1, jan/jun,1972.

BOLETIM EPIDEMIOLOGICO DA DENGUE, ano 2,nº 4,16 junho de 2010.

BURG, I. C. e MAYER, P. H. **Alternativas ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças**.7, Ed. Francisco Beltrão/PR, Grafit,1999.

BRAGA, Renato. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2.^a Ed. Imprensa Oficial do Ceará., v. 3, p.540, 1960.

BRAGA, I. A. et al. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição, para detecção de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical**. v33 ,jun-agos p. 347-353, 2000.

CALLEGARI-JACQUES,Sidia M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Editora: Arremed,Porto Alegre-RS, 2003.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, 2001.

CANDEIA, Brígida Lima. **Faveleira (*Cnidoscopus phyllacanthus* (Mart) PAX ET K.HOFFM).** INERME:**Obtenção de mudas e crescimento comparado ao fenótipo com espinhos**.Dissertação.Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,UFPB,2005.

CANDIDO, L. P. **Avaliação de Extratos vegetais para o controle do *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.)**.Monografia.Campina Grande-PB,UEPB, p.58, 2006.

CANDIDO, L.P.;CAVALCANTI, M. T.;QUIRINO,T.F;LEANDRO,R.S.;BESERRA,E.B. **Bioatividade de Extratos de *Cnidoscopus phyllacanthus* (Euphorbiaceae) para o controle de *Aedes aegypti*(L.1762)**. XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA,Natal/RN, 2010.

CONSOLI, R. A. G. B. e OLIVEIRA, R. L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Editora Fiocruz ,Fundação Oswaldo Cruz,1994.

CARVALHO, M. S. L. et al. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, 2004.

CORIO, C. et al. Larvicide and oviposition deterrents effects of fruit and leaf extracts from *Melia azedarach* (L.) on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Bioresourc Technology**, v.99,p.3066-3070, 2007.

CHEN, C. C.; CHANG, S. J.; CHENG, L. L.; HOU, R. F. Effects of chinaberry fruit extract on feeding, growth and fecundity of the diamondback, *Plutella xylostella* L.(Lepidoptera: Yponomeutidae). **Journal of Applied Entomology**, v.120, p.341-345, 1996.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT(Diclorofeniltricloroetano) toxicidade e contaminação ambiental-uma revisão.**Química Nova**.v.25,p.995-1002,2002.

DUQUE, José Guimarães. **Solo e água no polígono das secas**. 2ª ed. Fortaleza – CE: DNOCS, v. I. 220p. 1951

DUQUE, José Guimarães. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3ª ed., Mossoró-RN: ESAM – Fundação Guimarães Duque, Vol. CXLIII, p.337, 1980a.

EMFAL. **Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos**. FISPQ.n 208, 2007. www.emfal.com.br/álcool/arquivosprodutos. Acesso em: dezembro 2010.

ENDO, Yuichi; OHTA, Tomihisa; NOZOE, Shigeo. **Favelines, novel tricyclic benzocycloheptans with cytotoxic activities from the Brazilian plant, *Cnidocolus phyllacanthus***. Tetraedron Letters. V.32, nº 26, p. 3083-3086, 1991a.

ENDO, Yuichi; OHTA, Tomihisa; NOZOE, Shigeo. **Favelanone, a novel tetracyclic cyclopropane derivative from de Brazilian plant, *Cnidocolus phyllacanthus***. Tetraedron Letters, v. 32, nº 40, p. 5555-5558, 1991b.

FERREIRA, J. T., CORREA, A. G., VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. 1ª ed. Editora UFSCar, 2001.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Medica**. São Paulo: Edusp, p.453-492, 2002.

GAJMER, T.; SINGH, R.; SAIN, R. K.; KALIDHAR, S. B. Effect of methanolic extracts of neen (*Azadirachta indica* A. (Juss) and dakain (*Melia azedarach* L.) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**. v.126, p.238-243, 2002.

GLUBER, D.J. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **Trends in Microbiology**, v.10, p.100-103, 2002.

HEBLING, M. J.A. Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbeaceae). To laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.86, p.253-256, 1996.

HONÓRIO, N.A. e OLIVEIRA. L. De. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 35 (4), p. 385-91, 2001.

HOLDEN, C. Entomologists Wane as insects Wax. **Science**, v.246, p.734-736, 1989.

HOLTZ, A. M. et al. Ação de plantas por meio de fitoquímicos sobre o segundo e terceiro nível tróficos. **Biociência**. Uberlândia. v. 20, n.1, p 53-60, jan/abr.2004.

HONÓRIO, N.A. e OLIVEIRA. L. De. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. **Revista de Saúde Pública**., v. 35 (4), p. 385-91, 2001.

HONORATO, B. Paraíba registra aumento de 27% nos casos de dengue. **Jornal da Paraíba**, 09 mai. 2008

HWANG, Y.S.; SCHULTZ, AXELORD, H.; KRAMER, W.L.; MULLA, M.S. Oviposição repellency of fatty acids and their derivatives against *Culex* and *Aedes* mosquitoes. **Environ Entomol.** 11: p.223-226, 2003.

INFORME EPIDEMIOLÓGICO DO SUS (IESUS). v 11, Nº. 4, p. 205 –213, 2002.

KRAMER, W. L.; MULLA, M.S. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition response of *Culex* mosquitoes to organic infusions. **Environmental Entomology**, v. 8, p. 1111- 1117, 1979.

LIMA, E.P. et al. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, 2006.

LOZOVEI, A. L. Culicídeos (mosquitos). **Entomologia Médica e Veterinária**. Editora Atheneu, p.432, 2001.

LUCENA, J.E.X. et al. Efeito antinociceptivo e antiinflamatório do extrato aquoso da entrecasca de *Coutarea hexandra* Schum (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16(1);jan/mar, 67-72, 2006.

LUETZELBURG, Philip Von. **Estudo Botânico do Nordeste**. Rio de Janeiro, MVOP-Instituto Federal de Obras contra as Secas, , v. 3, p.134. (Publicação, 57, série I.A.) 1923.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F; NAVARRO, M. A. S. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temefós e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. 38;p.824-3, 2004.

MACCHIONI,F.;CARUGINI,S.;CECCHI,F.;SICILIANO,T.;BRACA,A.;CIONI,P.;MORELLI,I. Aqueous extracts of *Codonopsis Javanica* against larval and pupal stages of *Aedes albopictus*, **Anale della Facolta di Medicina Veterinária**, 57, p215-20, 2004.

MANUAL DE DENGUE. **Vigilância Epidemiológica e atenção ao doente**. 2ª edição Brasileira, D.F. DEORE, p.13-14,1996.

MARCONDES, C.B. **Entomologia Médica e Veterinária**. 1ª ed. São Paulo, Atheneu. p. 432, 2001.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. **Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve**. *Bragantia*, Campinas, v.64, n.2, p.227-232, 2005.

MEDEIRO, Viviane Ferreira. **Potencial larvicida de Estratos de plantas Regionais no controle de Larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae)**.Dissertação.Universidade Federal do Rio Grande do Norte,UFRN, p,73, 2007.

MELO, Andre Laurenio. **Estudos taxonômicos sobre o gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoideae- Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco – Brasil**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.p.153, 2000.

MILANI, Maíra; MIGUEL, Sabino Ramalho Jr. e SOUSA, Romero de Lima. Sub-espécies de Mamona,**Documentos 230**,ISSN,Embrapa Algodão,Campina Grande-PB,dezembro,2009.

MORAIS, N. B. et al. Dengue um desafio a vencer. **Revista CFMV**, Brasília-DF, v 10(33), p.11-172004.

MORAIS, Josdemar Miniz. Bioatividade de Extratos de Annonaceae sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762)(Diptera:Culicidae). Dissertação, Universidade do Estado Mato Grosso,Pós-graduação em Ciencias Ambientais,2009.

MOREIRA, J. A. Nunes; SILVA, Faniel Pereira da; COSTA, J. Tarcísio Alves; KOKAY, Lojus. Ocorrência de faveleiro sem espinho no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, CE, 4(1-2), Dez.,p. 51-55, 1974.

MURUGAN,K.;MURUGAN,P. e NOORTHEEN,A.Larvicidal and repellent potencial of *Albizzia amara boivin* and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector,*Aedes aegypti*(Insecta:Diptera;Culicidae) **Bioresource Technology**,98, p.198-201, 2007.

NATHAN, S. S.; SAVITHA, G.; GEORGE, D. K.; NARMADHA, A.; SUGANYA L.;CHUNG, P. G. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Bioresource Technology**, v.97, p.1316–1323, 2005.

NATHAN,S.S. et al.Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial Vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera:Culicidae). **Bioresource Technology**.,97:1316-23, 2006.

NATHAN,S.S. The use of *Eucalyptus Tereticornis* Sm.(Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae).**Bioresource Technology**.98:1856-60, 2007

NOBREGA, Silvia Berenice Puzeski. **A faveleira (*Cnidoscylus quercifolius*) como fonte alternativa na alimentação humana e animal no Semi-Árido Paraibano**. Dissertação. UFPB/PRODEMA, João Pessoa, p. 43, 2001.

NOGUEIRA, S. A. O desafio do diagnóstico da dengue em crianças. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. 3, 2005.

OLIVEIRA, Odaci Fernandes de. Algumas árvores do Município de Mossoró. **Caatinga**. Mossoró, v. 1, n. 1, , p. 7-17, 1976.

ORIA, G.I STEIN, M. & GORODNER, J.O. **Ecoepidemiológica urbana de formas imaturas de mosquitos (Díptera: Culicidae em la ciudad de Resistência**, Instituto de Medicina Regional, Universidade Nacional Del Nordeste, 2000.

PASSOS, A, MARQUES, RAM G. et al, Pominance of *Aedes aegypti* Over *Aedes albopictus* in the south heastern coast of Brazil, **Journcel of Public Health.**, v. 37, nº 6, p. 720 – 730, 2003.

PEREIRA, Faneco Giovana. **A família Rubiaceae JUSS. na vegetação Ripária de um trecho do alto do Rio Paraná,Brasil, com ênfase na tribo spermacoceae.**Dissertação(ecologia de ambientes aquáticos continentais).Universidade Estadual de Maringá, 2007.

PEIXOTO, M. S. R. M. **Intensidade de pragas e doenças na produção do tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill) em cultivo submetido a pulverizações com extratos vegetais e urina de vaca.** Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente)-Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente-PRODEMA,Universidade Estadual da Paraíba,Campina Grande, 2003.

PIMENTA, Antonia T. A.; SANTIAGO, G.M.P.; ARRIAGA, A.M.C.; MENEZES, G.H.A.; BEZERRA, S.B. Estudo Fotoquímico e Avaliação da Atividade Larvicida de *Pterodon polygalaeflorus* Benth. (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. Revista Brasileira de Farmacognosia. vol.16,n.4, p.501-505, 2006.

PORTO, et al. Atividade larvicida do Óleo de *Anacardium humile* Sant Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762) (Diptera; culicidae).**Artigo Informe Epidemiologico do SUS.**v.11,2001.

PRISTA, L.N. e ALVES,C. **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica**, vol. II, 2 ed.,Fundação Calouste Gulbenkian.1986 p. 1508-13.

QUIRINO, Fernandes Tatiany. **Avaliação do potencial inseticida de extratos de *Nicotiana tabacum* L.(Solanaceae) para o controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae).** Monografia, Departamento de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2010.

REZENDE, G. L.; MARTINS, A. J.; GENTILE, C.; FARNESI, L. C.; PELAJO-MACHADO, M.; PEIXOTO, A. A. e VALLE, D. Embryonic desiccation resistance in *Aedes aegypti*: presumptive role of the chitinized serosal cuticle. **BMC Developmental Biology** 8: 82, 2008.

RIBEIRO, Valeria Veras. **Efeitos de Fungicidas e Produtos Naturais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. SP. Tracheiphilum em sementes de CAUPI.** Tese, Areia, UFPB-CCA, 2008.

RODRIGUES, A. M. S.; DE PAULA, J. E.; ROBLOT, F.; FOURNET, A. ESPINDOLA, L. S. Larvicida activity of *Cybistrax antisiphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. **Fitoterapia**, v.76, p.755-757, 2005.

RODRIGUES, Jucélia Maria Emerenciano. **Preparação de Poliuretana a base de óleo de Mamona.** Tese (Doutor em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, 2005.

ROTHER, Débora C. et al. Suscetibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação a ricinina. *Iheringia*, **Serie Zoologia**, vol.99, n° 1, Porto Alegre, Março, 2009.

SANTA ROSA, Jayme. **Óleo de Favela – Nova riqueza da Região das secas.** Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Tecnologia (INT), 1943.

SANTIAGO, Gilberto Pedreira et al. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (L.E.Smith, 1797). (Lepidoptera:Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Cienc. Agrotec.** vol.32, n.3, p.792-796, 2008.

SANTOS, Antônio Valeriano Pereira dos; GRISI, Breno Machado. Anatomia foliar ecológica de algumas plantas da caatinga. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 773-787, Dez., 1976.

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. **Farmacognosia da planta ao medicamento**,5º Ed.,Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.1102, 2004.

SENHORINI, Grece Aparecida. **Microparticulas Poliméricas de PHBV e emulsões contendo extrato vegetal de *Carapa guianensis*: Desenvolvimento, caracterização e aplicação**. Dissertação,Pós-Graduação em Química.Universidade Federal do Paraná,p.105, 2007.

SILVA, Aderbal Marcos de Azevedo; PEREIRA FILHO, José Moraes; SOUSA, Iraci Saraiva; VIEIRA, Ednéia de Lucena; AMORIM, Olavo Souto. Aceitabilidade por ovinos a espécies lenhosas do Semi-árido Paraibano. **Anais da XXXV Reunião da SBZ - Botucatu – SP**, Jul.,p. 230 – 232, 1998,.

SILVA, H. H. G. et al. Estudo de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* L. (1762) (Díptera: Culicidae) em condições de laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, XVII. **Anais**, Rio de Janeiro: SEB, p.998, 1998.

SILVA, H. H. G. e SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* L. (1762) (Díptera: Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**., v.32, n.4, ,p.349-355, 1999.

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

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue- Atividade larvicida de *Myroxlom Balsamum* (Óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Revista Química Nova**, v27, p.46-49, 2004.

SISMEIRO, M. N. S.; SANTOS, L. A. O.; SANTOS, M. C. MIHSFELDT, L. H. Atividade de extratos de *Ricinus communis* L. na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E.SMITH,1797) (LEPIDOPTERA:NOTUIDAE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, XXIII. **Anais**, Natal-RN, 2010.

SIVAGNAME, N.; KALYANASUNDARAM, M. Laboratory avaluation of methanolic extract of *Atlantia ophylla* (family: Rutaceae) against immature stages of mosquitoes and non-target organisms. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v.99, p.115-118, 2004.

SOARES, S. S.; MELLO, R. C. G. e GARLADO, A. K. R. Avaliação e efeito residual do abater® utilização no do *Aedes aegypti*. **CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, XXXVII**, 2001, São Luis-MA: SBMT, p.283, 2001.

SUKUMAR, K.; PERICH, M. J. & BOOBAR, L. R. Botanical Derivatives in Mosquito Control: a Review. **J. Am. Mosq. Control Assoc**, v. 7, p. 210-217, 1991.

SCHOONHOVEN, L.M.; VAN LOON, I.A.; JERMY, T. **Insect-plant biology; from physiology to evolution**. Chasman & Hall, London, 1998.

SCHOONHOVEN, L.M.; VAN LOON, I.A.; DICKE, M. **Insect-plant Biology**. Second Edition, Oxford, p421, 2005.

SHAALAN, E.A.S.; CANYON, D.; YOUNES, M.W.F.; ABDEL-WAHAB, H. e MANSOUR, A.H. Effects of sub-lethal concentrations of synthetic insecticides and *Callitris glaucophylla* extracts on the development of *Aedes aegypti*. **Journal of Vector Ecology**. 30(2), p.295-298, 2005.

TEIXEIRA, Dulcinéia Furtado. **Estudo químico e avaliação biológica de *Atalea excelsa* Mart. Ex SPRENG (urucuri) e *Pterodon emarginatus* vog (sucupira branca) em *Aedes aegypti*.** Tese. Rio de Janeiro, UFRJ, p.124, 2003.

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.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Inquérito soro epidemiológico na Ilha de São Luiz durante epidemia de dengue no Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 171-179, 1999.

VIANA, Obed J.; CARNEIRO, Maria Socorro S. Plantas forrageiras xerófilas - I Faveleira inerme, *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) Pax & K. Hoffm., no Semi-árido Cearense. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 22, n. 1 e 2, Jun./Dez., p. 17-21, 1991.

World Health Organization (WHO). **Problemas Técnicos de las Operaciones de Lucha Antivectorial. Primer Informe del Comité de Expertos de la OMS em Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial.** Serie de Informes Tecnicos. n. 603, p.44,1977.

World Health Organization (WHO). **Intructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides.** Geneva WHO/VBC/807:1-6,1981[a]..

World Health Organization (WHO). **Criteria and meaning of tests for determining the susceptibility or resistance of insects to insecticides.** Geneva.1981[b].

World Health Organization (WHO). **Dengue haemorrhagic fever:Diagnosis, treatment, prevention and control.** Geneva WHO,1997b.

World Health Organization (WHO). **Guidelines for laboratory and Field testing of mosquito larvicides.** WHO/ CDS/ NTD/ WHOPES/ GCDPP, 2005.

