



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**



**JULIANA NASCIMENTO ANDRADE**

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE *Phyllanthus acuminatus* VAHL  
UTILIZADA TRADICIONALMENTE COMO ICTIOTÓXICA NA  
MORTALIDADE DE LARVAS DE *Aedes aegypti* LINNAEUS  
(DIPTERA: CULICIDAE)**

Feira de Santana, BA

2013

**JULIANA NASCIMENTO ANDRADE**

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE *Phyllanthus acuminatus* VAHL  
UTILIZADA TRADICIONALMENTE COMO ICTIOTÓXICA NA  
MORTALIDADE DE LARVAS DE *Aedes aegypti* LINNAEUS  
(DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Eraldo Medeiros Costa Neto  
Coorientador: Prof. Dr. Hugo Neves Brandão

Feira de Santana, BA

2013

Dedico este trabalho aos meus pais que tanto amo e que sempre me incentivaram a seguir em frente, à minha irmã pelo apoio e torcida, à amiga Patrícia pela amizade e acompanhamento integral durante o curso, ao meu marido e filho por entenderem a minha ausência, em alguns momentos e ao meu orientador pela constante confiança. Com vocês, a minha vida fica mais leve e realizada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus por mais um caminho aberto em minha vida e por me proporcionar coragem e determinação durante o curso.

À Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), pela oportunidade.

Ao PPGBiotec, por abrir as portas para que eu desenvolvesse este projeto.

Ao Prof. Dr. Eraldo Medeiros Costa Neto, Departamento de Ciências Biológicas da UEFS, e ao Prof. Dr. Hugo Neves Brandão, Departamento de Saúde da UEFS, pelas orientações e pela confiança.

Ao Prof. Dr. Luciano Augusto de Araújo Ribeiro, Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), pela acolhida e grande ajuda na metodologia e análises estatísticas.

À Prof. Dra. Angélica Maria Luchese, Departamento de Exatas da UEFS, pela paciência e direcionamento durante os testes biológicos.

Aos meus pais, irmã, sobrinhas, filho e marido pela compreensão e paciência com relação a minha ausência em vários momentos durante esses dois anos.

À querida amiga Patrícia, que estudou comigo desde o início para passarmos no Mestrado e ajudou-me inúmeras vezes com seus conselhos durante o desenvolvimento do projeto e, quando possível, esteve ao meu lado nos momentos difíceis.

À amiga Priscila pela contribuição durante a conclusão da dissertação, sempre com troca de informações, experiências e palavras de incentivo.

À amiga Lara, pelas brincadeiras e gargalhadas mesmo nas horas de agonia somente para melhorar o meu astral e por toda ajuda nas disciplinas e na execução dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo de Mestrado.

À Biofábrica Moscamed Brasil por ceder as larvas de *Aedes aegypti* e o laboratório utilizados para a realização do bioensaio.

Ao pessoal do Horto Florestal (LAEX – Laboratório de Extração de Produtos Naturais), em especial à estagiária Caroline que me ajudou na manipulação dos solventes durante a preparação dos extratos preservando ao máximo a vida do meu filho carregado em meu ventre.

Ao pessoal do LAPRON (Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos) pela receptividade e ajuda no bioensaio.

E a todas as pessoas, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste projeto.

A todos, o meu mais profundo e sincero: **MUITO OBRIGADA!**

“Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe. Só levo a certeza de que muito pouco sei, ou nada sei... Cada um de nós compõe a sua história. Cada ser em si carrega o dom de ser capaz e ser feliz.”

(Almir Sater e Renato Teixeira)

## RESUMO

A dengue é uma endemia disseminada pelo *Aedes aegypti* Linnaeus que além de ter provocado grandes epidemias nos últimos anos no Brasil, ainda não possui uma vacina efetiva. A larva deste mosquito demonstra grande resistência aos larvicidas químicos comumente usados nas ações de controle do vetor e, portanto, algumas plantas ictiotóxicas são alvos de estudos para descoberta de substâncias promissoras presentes em extratos vegetais que possam ser aproveitados ou até transformados em inseticidas naturais. Este trabalho iniciou-se com o estudo etnobiológico conduzido no município de Maragogipe, utilizando entrevistas abertas e semi-estruturadas com os moradores locais com o objetivo de coletar informações em níveis socioculturais distintos, enfocando qual planta é comumente utilizada como ictiotóxica e com possível efeito larvicida. Das plantas identificadas como ictiotóxicas, a mais citada pela comunidade visitada foi a espécie *Phyllanthus acuminatus* Vahl. O extrato bruto do caule e da folha desta planta, assim como suas diferentes concentrações, foram testados em larvas do mosquito *A. aegypti* verificando a taxa de mortalidade em 24 e 48 horas em condições de laboratório com temperatura de 25°C em câmara B.O.D. a fim de avaliar a sua ação como agente bioinseticida. Embora não tenha sido padronizada uma dosagem adequada de um larvicida natural a partir de extratos da planta testada, verificou-se que em maiores concentrações é possível obter o efeito desejado contribuindo para o rompimento no ciclo de desenvolvimento do vetor da dengue e colaborando para a diminuição no uso indiscriminado de larvicidas sintéticos que apresentam alto poder de toxicidade.

**Palavras-chave:** Larvicida. *Phyllanthus acuminatus*. *Aedes aegypti*

## ABSTRACT

Dengue is an endemic disease caused by *Aedes aegypti* Linnaeus that besides have caused major epidemics in recent years in Brazil, does not have an effective vaccine. The larvae of these mosquitoes demonstrates high resistance to chemical larvicides commonly used in vector control activities and therefore some plants ictiotóxicas studies are targets for discovery of promising substances present in plant extracts that can be leveraged or even transformed into natural insecticides. This work began with an ethnobiological study conducted in the municipality of Maragogipe by using open and semi-structured interviews with local residents in order to collect information in different sociocultural levels, focusing on which plant is commonly used as ichthyotoxic, and then with possible larvicidal effect. Out of the ichthyotoxic plants recorded, the species most cited was *Phyllanthus acuminatus* Vahl. The crude extract of the leaf and stem of this plant, as well as their different concentrations were tested in larvae of the mosquito *A. aegypti* checking the mortality rate at 24 and 48 hours at laboratory conditions to 25°C in a growth chamber to assess its action as biopesticide agent. Although not standardized a suitable dosage of a larvicide from natural plant extracts tested, it was found that in higher concentrations it is possible to achieve the desired effect contributing to breaking the cycle of development of dengue vector and contributing to the reduction the indiscriminate use of synthetic larvicides that have high power toxicity.

**Keywords:** Larvicidal. *Phyllanthus acuminatus*. *Aedes aegypti*.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localização do município de Maragogipe na Bahia. Fonte: Brasil (2002); IBGE (2010) (adaptado).....	29
Figura 2. Registro fotográfico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl (Phyllantaceae) - espécie coletada para estudo. Fotos da autora.....	31
Figura 3. <i>P. acuminatus</i> sendo desfolhada no LAPRON. UEFS. Foto da autora.....	32
Figura 4. Bomba de Vácuo (MA 057/1 MARCONI), Kitassato e Funil de Büchner para a filtração à pressão. Foto da autora.....	33
Figura 5. Partição com hexano. A – Adição de hexano ao extrato bruto e B – Evaporador rotativo com extrato hexânico. LAEX, Horto Florestal.....	35
Figura 6. Partição com clorofórmio. A – Clorofórmio no funil de separação e B – Evaporador rotativo com extrato clorofórmico. LAEX, Horto Florestal.....	35
Figura 7. Partição com acetato de etila. A – Acetato no funil de separação e B – Evaporador rotativo com extrato acetato de etila. LAEX, Horto Florestal.....	36
Figura 8. Armadilha utilizada para captura de ovos do mosquito <i>Aedes aegypti</i> no município de Jacobina/BA. Fotos da autora.....	37
Figura 9. A e B – Ovos obtidos do mosquito <i>Aedes aegypti</i> no município de Jacobina/BA. Fotos da autora.....	38
Figura 10. A, B, C, D – Eclosão dos ovos em vasos de vidro contendo água. Fotos da autora.....	38
Figura 11. Demonstração da preparação da solução mãe e das placas de Petri com as diferentes concentrações para cada extrato.....	40
Figura 12. Adição de DMSO às placas de Petri já com o extrato a ser testado.....	41
Figura 13. Estudo em triplicata das quatro concentrações diferentes mais o controle. Foto da autora.....	46
Figura 14. Testes com larvas de <i>A. aegypti</i> e as cinco concentrações em tubos de ensaio. Foto da autora.....	47
Figura 15. Larvas imersas na concentração a 1mL com 30% mortas. Foto da autora.....	48
Figura 16. Presença de espuma durante a filtração à vácuo o que caracteriza a presença de heterosídeos saponínicos. Fotos da autora.....	49
Figura 17. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito <i>A. aegypti</i> frente ao extrato etanólico bruto de <i>P. acuminatus</i> em diferentes concentrações.....	50 51
Figura 18. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito <i>A. aegypti</i> frente ao extrato hexânico de <i>P. acuminatus</i> em diferentes concentrações.....	52
Figura 19. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito <i>A. aegypti</i> frente ao extrato clorofórmico de <i>P. acuminatus</i> em diferentes concentrações.....	52
Figura 20. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito <i>A. aegypti</i> frente ao extrato acetato de etila de <i>P. acuminatus</i> em diferentes concentrações.....	53

**LISTA DE TABELA**

<b>Tabela 1.</b> Quantidade de extrato, H <sub>2</sub> O e DMSO para cada uma das cinco concentrações a serem testadas.....	41
<b>Tabela 2.</b> Média dos resultados obtidos mais desvio padrão do índice de mortalidade (%) da larva do mosquito <i>A. aegypti</i> frente ao extrato bruto de <i>P. acuminatus</i> em diferentes concentrações.....	47

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ADP – Adenosina Difosfato.....	20
ATP – Adenosina Trifosfato.....	20
DENV1 – Dengue Vírus 1.....	17
DENV2 – Dengue Vírus 2.....	17
DENV3 - Dengue Vírus 3.....	17
DENV4 - Dengue Vírus 4.....	17
DMSO – Dimetilsulfóxido.....	39
HUEFS – Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana.....	30
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.....	28
LAEX – Laboratório de Extração de Produtos Naturais.....	33
LAPRON – Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos.....	31
UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana.....	29
UBV – Ultra Baixo Volume.....	18
IVC - Insuficiência Venosa Crônica.....	26
APO - Armadilhas para Ovos.....	37

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<i>Aedes aegypti</i> Linnaeus (1762) (Diptera: Culicidae).....	16
<b>2.2</b>	Uso de inseticidas no controle de <i>A. aegypti</i> .....	18
<b>2.3</b>	Plantas ictiotóxicas com potencial bioinseticida.....	19
<b>2.4</b>	Estudos etnobotânicos.....	21
<b>2.5</b>	<i>Pyllanthus acuminatus</i> Vahl (Phyllantaceae).....	22
<b>2.6</b>	Saponinas e suas propriedades fisicoquímicas.....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	Caracterização da área de estudo.....	28
<b>3.2</b>	Procedimentos de campo.....	29
<b>3.3</b>	Coleta e identificação do material vegetal.....	30
<b>3.4</b>	Obtenção dos extratos de <i>P. acuminatus</i> .....	31
<b>3.4.1</b>	Obtenção do extrato da planta fresca.....	31
<b>3.4.2</b>	Obtenção do extrato da planta seca.....	33
<b>3.5</b>	Ensaio com extrato aquoso.....	36
<b>3.6</b>	Obtenção e manutenção de larvas do <i>A. aegypti</i> .....	37
<b>3.7</b>	Instalação do bioensaio com larvas de <i>A. aegypti</i> .....	38
<b>3.7.1</b>	Bioensaio com o material fresco.....	39
<b>3.7.2</b>	Bioensaio com o material seco.....	39
<b>3.8</b>	Análise estatística.....	42
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	Estudo etnobotânico.....	43
<b>4.2</b>	Ensaio com extrato aquoso.....	45
<b>4.3</b>	Avaliação do bioensaio com o sumo fresco de <i>P. acuminatus</i> sobre larvas de <i>A. aegypti</i> .....	45
<b>4.4</b>	Avaliação do bioensaio com os extratos etanólico bruto, hexânico, clorofórmico e acetato de etila de <i>P. acuminatus</i> sobre larvas de <i>A. aegypti</i> .....	50
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>66</b>
	Apêndice A.....	67
	Apêndice B.....	68

## 1 INTRODUÇÃO

Mosquitos atuam como vetores de diversas doenças, causando sérios problemas à saúde do homem e, em alguns casos, levando ao desenvolvimento de epidemias de difícil controle. O uso contínuo e indiscriminado de inseticidas químicos no combate a mosquitos causadores em potencial de certas doenças infecciosas tem provocado danos à saúde do homem e ao meio ambiente, além de promover a seleção de resistência aos inseticidas comerciais (SANTIAGO et al., 2005).

Nos últimos anos, a resistência do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), mosquito vetor da dengue, frente aos inseticidas comumente utilizados nos programas de combate da população vem impondo barreiras ao controle dessa espécie de interesse médico-sanitário. Resultado do uso indiscriminado de larvicidas, o fenômeno pode derivar diretamente de novas mutações. A resistência, portanto, é sempre relacionada a uma alteração no genótipo do organismo.

*A. aegypti* atua como vetor da febre amarela na América Central, na América do Sul e no Oeste da África, e como vetor da dengue, que é endêmica no Sudoeste da Ásia, ilhas do Pacífico e Américas (CICCIA; COUSIO; MONGELLI, 2000). Atualmente, é o mosquito que apresenta a maior dispersão em áreas urbanas no mundo. A importância médica dessa espécie está na sua capacidade vetorial dos quatro sorotipos do vírus da dengue e do vírus amarílico. As altas densidades estão relacionadas ao comportamento sinantrópico e ao hábito antropofílico dessa espécie (SILVA et al., 2004). A perspectiva de controle desse vetor, na atualidade, esbarra na sua grande capacidade adaptativa a condições adversas, como o desenvolvimento em águas poluídas (SILVA; SILVA, 1999b) e a quiescência dos ovos em ambientes inóspitos (SILVA et al., 1999a).

A eliminação do vetor através de produtos sintéticos tem causado efeitos indesejáveis dos inseticidas utilizados nos programas de controle, como a permanência por longos períodos de tempo no meio ambiente, afetando os ecossistemas (SILVA et al., 2004). Essa situação estimula a pesquisa de produtos naturais, sendo que alguns estudos apontam compostos de origem botânica com atividade larvicida e potencial para uso no controle de vetores.

Metabólitos secundários produzidos por algumas plantas apresentam atividade inibitória de crescimento de insetos (CHARIANDY et al., 1999), enquanto outros agem como repelente

(MOHAN; FIELDS, 2002). Diante do aumento de casos de dengue no país, bem como a dificuldade no controle de seu agente etiológico em áreas urbanas e rurais com inseticidas químicos industrializados, o uso de bioativos oriundos da flora nativa tem sido apontado como uma possível solução para o problema. Desse modo, esforços têm sido realizados visando à prospecção, ao isolamento e à caracterização de princípios ativos úteis ao desenvolvimento de novos venenos e que podem atender aos requisitos de eficácia, seletividade e biodegradabilidade (ISMAN, 2006).

A megadiversidade brasileira, resultado das adaptações dos organismos às amplas variações nas condições climáticas do país, representa uma reserva potencial de novos fitoquímicos bioativos. No fitocomplexo de nossas plantas medicinais estão presentes centenas de substâncias, fruto das interações entre o vegetal e os fatores bióticos e abióticos externos, tais como: a disponibilidade hídrica, as condições climáticas, a presença de microbiota associada ao solo ou ao próprio vegetal e as interações inter e intraespecíficas com outras espécies presentes no ambiente (VARNA et al., 2008).

Considerando esse cenário, pesquisas voltadas a este objetivo podem contribuir significativamente no desenvolvimento do campo da saúde em nível regional, nacional e mundial, sendo possível encontrar substâncias mais eficazes e menos tóxicas que as já existentes, na prevenção e tratamento contra as diversas doenças existentes no mundo atual (BARBOSA-FILHO et al., 2007; SAÚDE-GUIMARÃES; FARIA, 2007; TREVISAN, 2010).

O estudo etnobotânico de algumas plantas comumente é realizado por pesquisadores em busca de novas drogas (ELIZABETSKY, 2003), de forma que seus compostos químicos sirvam no controle de pragas e vetores de doenças. Segundo Amorozo (1996), etnobotânica é a ciência que se ocupa do estudo do conhecimento e das conceituações desenvolvidas pelas sociedades a respeito dos vegetais, incluindo o uso que se dá a eles. Caracteriza-se como uma ciência altamente interdisciplinar, porque envolve não só a botânica, como também a fitoquímica, a farmacologia, a medicina, a antropologia, entre outras (FONTE, 2004).

Comunidades tradicionais utilizam as plantas para variadas funções, dentre elas a cura de doenças, como repelente, na alimentação e nas atividades de pesca. Informações sobre o uso de plantas tóxicas que podem facilitar a atividade pesqueira estão presentes em populações indígenas. As espécies conhecidas como timbó (plantas ictiotóxicas) são utilizadas há várias décadas pelos índios da Amazônia nas pescarias e para o controle de insetos-praga (HIEN et al., 2003; MARINOS et al., 2004; KOTZE et al., 2006). A obtenção, manipulação e aplicação do extrato de timbó é relativamente simples e de baixo custo (COSTA et al., 1999), o que poderá viabilizar o seu uso como inseticida natural.

Em função de intervenções com inseticidas sintéticos no Brasil, o mosquito *A. aegypti* adquiriu resistência em alguns Estados, dentre eles Rio de Janeiro, Sergipe e Alagoas (BRAGA et al., 2004). Assim, este trabalho teve a finalidade procurar alternativas naturais para controle da espécie por meio da prospecção de substâncias larvicidas, utilizando extratos do material vegetal fresco e seco de *Phyllanthus acuminatus* Vahl, espécie de planta do semiárido baiano pertencente à família Phyllantaceae.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 *Aedes aegypti* L. (1762) (Diptera: Culicidae) e a dengue

Originário da África, o *Aedes aegypti* (família Culicidae, subfamília Culicinae, tribo Aedini, gênero *Aedes* Meigen, 1818, espécie *A. aegypti* Linnaeus, 1762) é o principal mosquito vetor do agente etiológico causador da dengue, o arbovírus do gênero Flavivírus (DEGALLIER et al., 2010) e também da febre amarela urbana nos trópicos (COELHO et al., 2009). É um mosquito que teve sua dispersão aumentada desde 1980 em várias partes do mundo (BARBOSA et al., 2010) e vem se disseminando no Brasil, atingindo quase a totalidade dos Estados (ALVES et al., 2008). Pouco após sua reintrodução no Brasil no século XX, o *A. aegypti* iniciou uma progressiva e alarmante propagação da dengue (TEIXEIRA, 2003).

É o mosquito que apresenta maior adaptação em áreas urbanas principalmente devido ao seu comportamento sinantrópico e hábito essencialmente antropofílico (SILVA et al., 2004; ESPÍNDOLA, 2008). Pode ser encontrado em ambientes naturais e/ou em criadouros gerados pela atividade humana nas suas formas larvária, pupa e alado. A disponibilidade de alimento e abrigo em habitações humanas favoreceu a adaptação do *Aedes* aos criadouros artificiais, o que teria sido um grande passo em direção ao comportamento sinantrópico (SOARES, 2008).

A ovoposição costuma ocorrer em ambientes com água parada e limpa em depósitos artificiais, como pneus, caixas d'água e tonéis destampados, além de depósitos naturais, como ocos de árvores e entre folhas de algumas espécies de plantas. Segundo Espíndola (2008), os ovos são depositados a poucos milímetros acima do nível da água podendo permanecer viáveis por mais de um ano e resistir à dessecação. O contato com a água inicia a eclosão dos ovos e o desenvolvimento de uma metamorfose completa passando por quatro fases distintas: ovo, larva e pupa que são as formas aquáticas e adulto que é a forma alada. Mosquitos fêmeas infectados transmitem para os seus descendentes o vírus da dengue, fazendo com que os novos dípteros fêmeas sejam capazes de infectar humanos em sua forma adulta (FONSECA; FIGUEIREDO, 1999).



As fêmeas necessitam de sangue humano para maturar seus ovos e, quando infectadas, carregam em sua saliva o vírus que é transmitido ao homem pela sua picada. Após um repasto de sangue infectado, a fêmea está apta a transmitir o vírus, depois de 8 a 12 dias de incubação extrínseca (BRASIL, 2010). O tempo médio de vida do *A. aegypti* é de 30 a 35 dias. O vírus fica armazenado no corpo do artrópode se proliferando em seus tecidos sem causar dano ao animal até ser transmitido ao hospedeiro vertebrado, o homem, o que costuma adoecer e apresentar diferentes sintomas.

Esses mosquitos conseguem completar seu ciclo com ambientes em condições adversas, não mais exclusivamente em água limpa para a eclosão dos ovos e de período diurno para hematofagia (SILVA et al., 2004). Costumam ser encontrados em domicílio e/ou peridomicílio, em locais mais escuros e em voos baixos (SOARES, 2008), apresentando corpo rajado de branco e preto.

O aumento populacional humano e a adaptação desse vetor aos diferentes tipos de ambientes urbanos para a ovoposição têm facilitado a sua dispersão no Brasil e contribuído para a transmissão dos quatro sorotipos do vírus da dengue em diferentes Estados. A dificuldade de controle desse vetor nos grandes centros urbanos contribui para o aumento no prejuízo à saúde humana e do meio ambiente com o uso contínuo e indiscriminado de inseticidas comerciais (SANTIAGO et al., 2005).

A dengue, também conhecida como “febre de quebra ossos” (BRASIL, 2010), é uma doença infecciosa causada por um arbovírus, vírus essencialmente transmitido por artrópodes, e transmitida através da picada do mosquito fêmea contaminado de uma pessoa doente para outra sadia (SANTIAGO et al., 2005; PIMENTA et al., 2006). Este arbovírus está presente em vários países do mundo, sendo que nas Américas o vírus da dengue persiste na natureza através do ciclo de transmissão homem infectado → *A. aegypti* → homem (BRASIL, 2010). Em 2007, nas Américas ocorreram cerca de 890.000 casos de dengue, onde, destes, destacam-se 26.000 casos de dengue hemorrágica (WHO, 2010).

É uma endemia que vem preocupando o Brasil nos últimos anos, pois além das grandes epidemias como as vivenciadas em 1998 e 2002, com cerca de 530 mil e 800 mil casos notificados, respectivamente (BRASIL, 2010), ainda não existe vacina específica sendo comercializada contra a doença que até pode levar à morte.

Quatro sorotipos diferentes foram descritos, DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4, todos membros do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae* (GUZMÁN; KOURI, 2001), aumentando o risco do número de casos de dengue, inclusive com manifestações hemorrágicas. Desde 1986, em vários Estados brasileiros são registradas epidemias, inicialmente com a introdução

do sorotipo DENV1 e depois com o aparecimento dos sorotipos DENV2 e DENV3, em 1990 e 2000, no Rio de Janeiro, sendo que o sorotipo DENV3 foi o que se destacou com uma rápida distribuição entre os anos de 2001 a 2003 para 24 Estados (BRASIL, 2010).

A primeira manifestação da dengue é a febre, em geral alta entre 39°C a 40°C, de início rápido, associada à cefaleia, mialgias, artralguas, dor retroorbitária, às vezes com presença de exantema e prurido (BRASIL, 2010). O período de incubação é de 3 a 15 dias, mas costuma ser de 5 a 6 dias. As manifestações hemorrágicas, como epistaxe, petéquias, gengivorragia, metrorragia, hematêmese, melena e hematúria (BRASIL, 2010), podem evoluir rapidamente podendo acontecer choques que levam à morte. Além disso, a plaquetopenia pode ser observada nas mais variadas apresentações clínicas da doença.

A transmissão da doença é exclusivamente dependente da picada do vetor fêmea infectado por algum dos quatro sorotipos, portanto, uma pessoa infectada não transmite a dengue diretamente a uma pessoa sadia nem mesmo através das suas secreções; somente transmitirá a doença de forma indireta ao ser picado por um mosquito *Aedes* que se infectará e fará o repasto em uma pessoa sadia.

O tratamento consiste no manejo adequado dos pacientes com reconhecimento precoce dos sinais de alarme, monitoramento contínuo, reestadiamento dos casos e reposição hídrica (BRASIL, 2010). Além da revisão da história clínica do paciente e dos resultados dos seus exames físicos, é importante identificar possível local de transmissão através de informações sobre onde e quando a pessoa esteve nos últimos seis dias e, se necessário, intervir com larvicidas e/ou inseticidas.

O controle da dengue consiste em três fatores básicos: controle vetorial, prevenção e controle epidemiológico (COELHO et al., 2009). O combate ao vetor consiste em inspeção domiciliar, eliminação mecânica de criadouros do mosquito e tratamento focal com uso de inseticidas para combater tanto a forma larvária quanto o adulto (LIGON, 2005), atividades de educação em saúde e mobilização social para que o índice de infestação do vetor fique abaixo do nível de transmissão da doença. Além disso, quando há epidemia, lança-se mão da aplicação espacial de inseticida a Ultra Baixo Volume (UBV). Vacinas que sejam eficazes contra os quatro sorotipos ainda estão em fase de estudo.

## **2.2 Uso de inseticidas no controle de *Aedes aegypti***

O controle de mosquitos e outras espécies de insetos de importância em saúde pública tem sido realizado nas últimas décadas mediante o uso de produtos químicos sintéticos, quer como larvicidas (mortalidade das larvas em locais de procriação em água parada) ou como inseticidas

para atingir os mosquitos adultos (OYEWOLE et al., 2010). Outros métodos auxiliares são utilizados, como campanhas que visam ao controle de criadouros, controle biológico através do uso de peixes e microorganismos e uso de repelentes como proteção individual (TEIXEIRA, 2003), embora os produtos químicos sintéticos ainda estejam em evidência.

Como resultados negativos da utilização indiscriminada desses inseticidas ao longo dos anos, destacam-se: o rompimento de sistemas de controle biológicos naturais, o desenvolvimento de resistência desses dípteros ao produto em curto espaço de tempo, efeitos negativos sobre organismos diversos, inclusive seres humanos, e poluição ambiental (OYEWOLE et al., 2010). Esses efeitos indesejáveis têm estimulado alguns pesquisadores a buscar medidas alternativas menos agressivas ao meio ambiente e à saúde humana que possam erradicar ou ao menos controlar os mosquitos vetores de doenças (SANTIAGO et al., 2005; OYEWOLE et al., 2010).

A larva do *A. aegypti* vive comumente em depósitos artificiais com água parada e limpa, e já mostra uma grande resistência aos larvicidas químicos usados nas ações de controle do vetor (FUNASA, 2002). Segundo Oliveira Filho (2002), insetos sob o tratamento intensivo dos inseticidas passaram a ser tolerantes e, portanto, o aumento das doses e a maior frequência de aplicação foram se tornando necessários, obtendo como resposta o aumento da resistência dos mosquitos aos inseticidas químicos, tornando o seu controle cada vez mais difícil e dispendioso. Braga *et al.* (2004) e Luna *et al.* (2004) verificaram a resistência a inseticidas em populações de *A. aegypti* em diversos Estados do Brasil, como São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Paraná, Sergipe e Alagoas. Populações desse mosquito de 20 municípios de vários Estados brasileiros apresentaram resistência, em especial ao temefós (DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

A utilização indiscriminada de inseticidas sintéticos contribui para uma alteração no equilíbrio ambiental, pois contamina o meio ambiente e os organismos vivos, levando à supressão de inimigos naturais (NAKATA et al., 2005).

Princípios ativos de plantas vêm sendo estudados por serem ecologicamente viáveis e têm demonstrado efeitos larvicida/inseticida por inibir o crescimento de insetos ou repelente (MOHAN; FIELDS, 2002). Além disso, a busca de novos inseticidas e o estímulo às pesquisas são motivados pela quase ausência de toxicidade destes produtos naturais aos animais e plantas, e pelo fato deles serem biodegradáveis, o que evita a contaminação do meio ambiente (PIMENTA et al., 2006).

O uso da biotecnologia para a descoberta de novos métodos de controle que causem menos danos ao meio ambiente e que sejam eficientes sobre os estágios de desenvolvimento do *Aedes* se torna promissor e de grande interesse à Saúde Pública. O uso de plantas ictiotóxicas inteiras, seu

extrato, frações ou o isolamento de substâncias ativas pode ser valioso na interferência do controle do vetor da dengue.

### 2.3 Plantas ictiotóxicas com potencial bioinseticida

Para o controle de algumas pragas, medidas alternativas têm sido testadas visando ao uso de plantas tóxicas (PENTEADO, 2000). Os primeiros inseticidas vegetais utilizados foram nicotina, rotenona e piretrina, os quais deixaram de ser usados com o surgimento dos inseticidas organoclorados que se mostravam mais eficientes e baratos (CORRÊA, 2006).

Apesar dos piretróides apresentarem graus diferentes de toxicidade, foi demonstrado que a exposição de mamíferos a esses inseticidas, de forma aguda ou subcrônica, induziu vários sinais de neurotoxicidade, como tremores e convulsões (KOLACZINSKI; CURTIS, 2004; SHAFER et al., 2005). Aliado ao risco à saúde, esses compostos presentes em inseticidas sintéticos têm provocado impacto ambiental, já que vêm contribuindo para a contaminação de solo, água e organismos vivos (ABDOLLAHI et al., 2004; NAKATA et al., 2005; RAIZADA et al., 2001).

Algumas espécies de plantas se destacam quanto à ação ictiotóxica, como *Phyllanthus acuminatus* Vahl e outras espécies de timbó, devido a sua toxicidade, apresentam comprovada ação inseticida (PEREIRA; FAMADAS, 2004; AZEVEDO et al., 2005), provocando letalidade inclusive de larvas de *Aedes*, como: *Lonchocarpus urucu* (Killip & A.C. Sm.) F.J. Herm. (Leguminosae – Fabaceae) e *Derris elliptica* (Wallich) Benth. (Fabaceae) conhecida como timbós verdadeiros (PIRES, 1973; ARAGÃO; VALE, 1973), pois possuem substâncias nas raízes com ação específica sobre animais de sangue frio (TEIXEIRA, 2003).

No extrato de timbó, os compostos flavonoídicos rotenóides são geralmente representados pela rotenona, toxocarol, deguelina, tefrosina e alfa-amisina (CORRÊA, 2006). A rotenona, que é um isoflavonóide cristalino, inodoro e insípido, biossintetizado pela via do metabolismo secundário, é o mais estudado destes princípios e o mais potente deles, causando a morte dos animais fundamentalmente pela inibição da cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP, sendo os peixes e os insetos altamente sensíveis (MASCARO et al., 1998). As raízes dessa planta, quando amassadas e agitadas na água, produzem um suco leitoso com cheiro muito forte e peculiar e, sob a ação desse suco, mesmo muito diluído, os peixes perdem o equilíbrio, sobem aturdidos à superfície e se deixam apanhar facilmente.

O extrato do timbó também possui atividade bioinseticida, pois as substâncias presentes matam os insetos bloqueando a respiração celular (CORRÊA, 2006). Esse composto atua como

veneno de contato, estomacal e traqueal, reunindo os três métodos técnicos usados no combate às pragas: por contato, envenenamento e asfixia. Há interesse ecológico na influência dos rotenóides sobre certas relações planta/inseto e um interesse permanente no seu uso como veneno para peixes em reservatórios de águas que utilizam espécies mais valiosas ou na pesca indígena (CROMBIE; WHITING, 1998).

Outra substância presente em algumas plantas ictiotóxicas é a saponina, glicosídeo saponosídico. As saponinas desempenham importantes funções fisiológicas nas plantas, como fatores de resistência contra patógenos e em interações alelopáticas (KALINOWSKA et al., 2005). Além das propriedades físicoquímicas (formação de espuma, emulsificação, solubilização, adoçante e amargor), destaca-se quanto às propriedades biológicas por ser hemolítico, antimicrobiano, molusquicida, inseticida e ictiocida (SPARG et al., 2004; VINCKEN et al., 2007). Muitas saponinas são capazes de causar desorganização das membranas das células sanguíneas (ação hemolítica) ou das células das brânquias em peixes (ação ictiotóxica) (SPARGH et al., 2004).

Segundo Moura e Marques (2007), a espécie utilizada com ação ictiotóxica no Remanso, na Chapada Diamantina - Bahia, corresponde a uma Sapindaceae (*Serjania* sp.), amplamente usada no sul do Brasil. Napolitano e seus colaboradores (2005), desenvolvendo estudos com *Serjania lethalis* A. St.-Hil., (Sapindaceae), demonstraram que extratos retirados deste vegetal também possuem ação ictiotóxica. Rodrigues *et al.* (2006), ao pesquisarem extratos desse mesmo vegetal, perceberam que o mesmo possuía alta atividade larvicida sobre *A. aegypti*. Panizza (1997) comprovou que *Paulinia elegans* Cambess., família Sapindaceae, conhecida como cipó-timbó e mata-fome, contém timboína em sua raiz, o que produz um efeito narcótico e ictiotóxico.

As saponinas triterpênicas encontram-se predominantemente em dicotiledôneas, principalmente nas famílias Sapindaceae, Hippocastanaceae, Sapotaceae, Polygalaceae, Caryophyllaceae, Primulaceae e Araliaceae (BERNARDO, 2012).

Na busca por novos potenciais compostos bioinseticidas para o controle da forma larvária do *A. aegypti*, e com baixa toxicidade para os demais animais, o gênero *Phyllanthus* merece atenção porque além de possuir comprovada ação ictiotóxica, possui também compostos químicos como taninos e saponinas que podem atuar como larvicidas (CÁRDENAS-LÓPEZ et al., 2002).

## 2.4 Estudos etnobotânicos

O termo “etnobotânica” foi cunhado inicialmente há pouco mais de um século, referindo-se primariamente ao uso de plantas por povos primitivos e aborígenes (LACERDA, 2008). O estudo

etnobotânico consiste na avaliação da interação humana com todos os aspectos do meio ambiente (MARTIN, 1995), mediante levantamentos nas comunidades tradicionais sobre a utilização das plantas na farmacopeia caseira e na economia doméstica. Atualmente, a etnobotânica vem sendo conceituada como o estudo das sociedades humanas e suas interações ecológicas, genéticas, evolutivas, simbólicas e culturais com as plantas, contribuindo para o conhecimento de diversas espécies medicinais (BÜTTOW, 2008).

Apresenta, como principal característica de estudo, o contato direto com as populações tradicionais, buscando resgatar todo o conhecimento possível sobre a relação mútua entre o homem e a flora de uma comunidade (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). Os conhecimentos tradicionais comportam: técnicas de manejo de recursos naturais, métodos de caça e pesca, conhecimentos sobre os diversos ecossistemas e sobre propriedades farmacêuticas, alimentícias e agrícolas de espécies e as próprias categorizações e classificações de espécies de flora e fauna utilizadas pelas populações tradicionais (SANTILLI, 2002).

Cada vez mais se reconhece o papel relevante das populações tradicionais para a conservação e o uso sustentável dos recursos naturais. Com o surgimento de novas tecnologias e a necessidade de desenvolver e produzir novos produtos, os conhecimentos tradicionais passaram a ser vistos como recursos com potencial industrial forte decorrente do novo cenário biotecnológico (MOREIRA, 2007). Segundo Pinton e Aubertin (2005), os povos tradicionais passam a assumir um papel de atores do desenvolvimento sustentável e da conservação da natureza.

Os povos indígenas se destacam quanto ao uso de recursos vegetais na medicina, na pesca e na alimentação. A acumulação de conhecimentos indígenas sobre as propriedades do mundo vegetal não pode ser explicada simplesmente como um produto do misticismo ou da magia. A descoberta de ações farmacológicas em muitas espécies é resultado de longos períodos de observação e experimentação (CABIESES, 1993).

Segundo Amorozo (2002), a etnobotânica busca captar as diferentes dimensões da relação de grupos humanos com as plantas, incluindo aspectos objetivos, como o manejo do ambiente, a utilização e domesticação de plantas, bem como os aspectos mais subjetivos, como a forma como as pessoas pensam e percebem o ambiente. Desta forma, muitas comunidades possuem sistemas próprios de manejo, resultado da experiência acumulada historicamente da sua relação com os recursos naturais, o que viabiliza a subsistência com um prejuízo ambiental mínimo (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

## 2.5 *Phyllanthus acuminatus* Vahl (Phyllanthaceae)

Phyllanthaceae, táxon recentemente desmembrado de Euphorbiaceae s.l. a partir de novos estudos filogenéticos com dados moleculares (WURDACK et al., 2005; APG III, 2009; SECCO et al., 2012), é uma das famílias mais diversificadas da ordem Malpighiales (clado Eurosidae I) com aproximadamente 2.000 espécies e 59 gêneros dispersos por todo o mundo (SAMUEL et al., 2005). O gênero *Phyllanthus* do grego *phyllon* (folha) e *anthos* (flor), pertence à subfamília Phyllanthoideae, tribo Phyllantheae, subtribo Flueggeinae (SILVA; SALES, 2004). Tem esse nome em alusão às flores produzidas em ramos que parecem folhas compostas (TORRES et al., 2003). É o maior gênero de Phyllanthaceae com elevado número de representantes: cerca de 1.200 espécies (WEBSTER, 2002; KATHRIARACHCHI et al., 2006) com distribuição em diversos ambientes e tipos vegetacionais das regiões tropicais do mundo (SILVA; SALES, 2004).

É um gênero considerado neotropical, pois possui cerca de 200 espécies distribuídas pelas Américas, principalmente Brasil e Caribe (TORRES et al., 2003), sendo que no Brasil há aproximadamente 107 espécies, encontradas nos campos rupestres, cerrados e caatingas (SILVA; SALES, 2007). Pesquisas abordando a taxonomia deste gênero ainda são escassas. Segundo Silva e Sales (2008), este gênero é ainda pouco estudado, principalmente no Nordeste do Brasil, mencionado nos estudos de Cordeiro (1995), Carneiro-Torres *et al.* (2003) e de Silva e Sales (2004, 2007), e com registro de 36 espécies comumente herbáceas e, menos frequente, arbustivas ou arbóreas.

Algumas espécies no Brasil são reconhecidas tradicionalmente por possuírem propriedades diuréticas, comumente utilizadas para eliminar cálculos renais, dentre elas *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn e *P. tenellus* Roxb. Müll. Arg., também conhecidas como quebra-pedra ou erva-pombinha (TORRES et al., 2003). Atividade antiviral foi associada a algumas espécies de *Phyllanthus* para tratamento de hepatite B e câncer (LORENZI; MATOS, 2002). Análises realizadas por Cárdenas-López e seus colaboradores (2002) mostraram a presença de flavonóides, taninos, saponinas, esteróides, triterpenóides, cumarinas e outros terpenóides em *P. acuminatus* Vahl. O potencial efeito sobre peixes é associado principalmente à presença de saponinas. *P. pseudoconamii* Müll. Arg. é usada como ictiotóxica entre os Huaorani do Equador (CÉRON; MONTALVO, 1998).

Há espécies utilizadas como ornamentais (*P. epiphyllanthus* L.) e outras que podem ser utilizadas como ictiotóxicas ou até em paisagismo, como *P. acuminatus* Vahl, por seus ramos modificados em cladódios (TORRES et al., 2003).

As espécies deste gênero possuem hábitos variados, principalmente herbáceo (70%) com folhas simples, em geral, membranáceas com margens planas (a maioria das espécies) ou revolutas (SILVA; SALES, 2008), ramificação filantoide ou não filantoide, sem látex, flores gamossépala em inflorescências unissexuais ou bissexuais, geralmente cimosas, flores diclinas com disco comumente inteiro nas pistiladas e segmentado nas estaminadas, gineceu 3 (raro 4)-carpelar, 3 (4)-locular, com lóculos biovulados, frutos capsulares e sementes sem carúncula (SILVA; SALES, 2007).

*P. acuminatus* é uma planta arbórea ou arbustivo-arbórea, com 3-6 m, ramos bipinatifformes, angulosos, lenticelados, glabros a puberulentos e sementes plano-convexas, superfície areolada, castanho-claro, lustrosas (SILVA; SALES, 2007). As flores são monoclamídeas com 4 a 6 sépalas bisseriadas apresentando cores esbranquiçadas, amareladas ou esverdeadas (SILVA; SALES, 2008). Distingue-se das demais espécies de *Phyllanthus* por possuir ramos bipinatifformes, flores hexâmeras com sépalas bisseriadas, estames (3) unidos e sementes plano-convexas. Além disso, possui disco estaminado com três segmentos e ausência de címulas nos ramos principais. O período de floração e de frutificação é entre os meses de fevereiro a junho e de agosto a novembro.

É uma espécie presente na América Latina, ocorrendo desde o México até o Norte da Argentina incluindo Antilhas (SILVA; SALES, 2007), presente em florestas secundárias e em matas de galerias do cerrado (SILVA; SALES, 2004). Segundo esses autores, é comumente encontrada no Brasil em florestas úmidas perenifólias, estacionais litorâneas e também de altitudes, às matas de restingas e às matas de galeria dos cerrados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Norte e Nordeste, sendo que nesta última região ocorre entre os Estados da Bahia à Paraíba comumente encontrada em solos argilosos. Na Colômbia é conhecida como barbasco (CÁRDENAS-LÓPEZ et al., 2002), enquanto que na Bahia é conhecida popularmente como "tinguí" e "mata-peixe" (SILVA; SALES, 2007).

## **2.6 Saponinas e suas propriedades fisicoquímicas**

As etapas que fazem parte da vida das plantas estão diretamente relacionadas com reações químicas que ocorrem no interior das células e podem ser divididas didaticamente em metabolismo primário e secundário (SIMÕES, 2003). Basicamente, todos os organismos convivem com os mesmos tipos de metabólitos primários (carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos), que no vegetal têm como função essencial a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos (GOBBO-NETO, 2007).



Os metabólitos secundários, por sua vez, são específicos dos seres autotróficos e são produzidos como substâncias de defesa contra predadores, com função de atração de polinizadores, como agentes de coloração e outras funções. Estes compostos participam das interações intra e intercelular do próprio organismo ou com células de outros organismos, podendo sua síntese ser muitas vezes afetada por condições ambientais, influenciando assim a qualidade e quantidade dos compostos secundários das plantas (BRAZ-FILHO, 2010). São exemplos de metabólitos secundários os terpenóides (óleos essenciais, fitoesteróis e carotenóides), alcalóides, fenilpropanóides (ácidos fenólicos e cumarinas) e glicosídeos (flavonóides e saponinas) (DEWICK, 2009).

Dentre os metabólitos secundários presentes em *P. acuminatus* merece destaque a saponina comumente associada à atividade ictiotóxica desse vegetal. Plantas contendo saponinas foram empregadas ao longo dos anos em várias partes do mundo como sabão. São, em geral, de grande emprego farmacêutico como adjuvante de formulações, componentes ativos em extratos vegetais e matéria-prima para síntese de esteroides (ARAÚJO, 2008).

Saponinas (do latim *sapone*, sabão), são substâncias de alto peso molecular e fazem parte do grupo dos terpenos, mais especificamente triterpenos. É formada por uma parte hidrofóbica denominada aglicona ou sapogenina e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açúcares, que em geral estão na forma de oligossacarídeos (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ; MAZZA, 2007). De acordo com o núcleo fundamental da aglicona são denominadas de saponinas esteroidais, triterpênicas ou alcaloides esteroidais.

As saponinas triterpênicas apresentam comportamento anfifílico e, por isso, atribuiu-se a essa molécula atividade ictiotóxica, hemolítica e de formar complexos com esteroides. Além disso, demonstram atividades antimicrobiana, antitumoral, pesticida, espermicida e inseticida, caracterizando-a como uma substância de ampla atividade biológica e farmacológica (ARAÚJO, 2008).

A diferença na polaridade dos elementos que compõem a molécula das saponinas é responsável pela capacidade das mesmas de reduzir a tensão superficial da água levando à formação de espuma, quando em solução aquosa. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-se dos sabões comuns (DINIZ, 2006).

Esteroides são derivados isoprenóides que exercem papel fundamental na integridade da membrana celular, regulando sua fluidez, permeabilidade e, indiretamente, modulando a atividade e distribuição de proteínas associadas à membrana, incluindo, enzimas e canais iônicos (MOTA, 2009).

A capacidade mais comum das saponinas é a de produzir hemólise devido a sua interação com os colesteróis presentes na membrana dos eritrócitos. O resultado é uma mudança conformacional da membrana promovendo penetração de íons e água para o interior da célula com consequente rompimento celular e liberação de hemoglobina (DINIZ, 2006).

A permeabilidade das células da mucosa intestinal também foi uma das ações observadas em estudos para saponina, assim favorecendo o transporte de nutrientes que normalmente eram impermeáveis às células (CHEEKE; OTERO, 2005). A saponina e sua função de redução de amônia são fatores importantes para o bem-estar animal e impacto ambiental, pois o ambiente com amônia elevada gera queda na produtividade.

Possui ação anti-inflamatória, anti-edematosa e propriedades vasoprotetoras, além de apresentar uma eficácia notável no tratamento da Insuficiência Venosa Crônica (IVC), hemorroidas e edema pós-operatórios (SALVIANO; FIOCCHI, 2013). Todas essas propriedades se devem a um mecanismo molecular identificado como permeabilidade vascular seletiva, que permite uma maior sensibilidade dos canais de cálcio aos íons (ARAÚJO, 2008).

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados, principalmente, com os sistemas de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos, considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como fitoprotetoras. A complexação das saponinas com colesterol altera a permeabilidade da membrana o que pode provocar a morte de animais. Sugere-se que sapogenina é a região da saponina que exerce os efeitos biológicos, isto é, a parte que se combina com colesterol na membrana da célula (FRANCIS et al., 2002).

Em ambientes aquosos, as sapogeninas (hidrofóbicas) necessitam da porção de açúcar (hidrofílica) para a solubilização. Após a saponina entrar em contato com a membrana celular,  $\beta$ -glicosidases presentes na membrana hidrolisam a porção glicosídica na molécula de saponina, libertando a sapogenina para combinar com os esteróis de membrana (WANG et al., 2000).

A interação entre saponinas e colesterol da membrana, portanto, deve levar em consideração a composição da membrana alvo, o tipo de cadeia lateral e a natureza da aglicona para produzir um efeito de permeabilização (MOTA, 2009).

As saponinas podem interagir com a porção polar dos fosfolípidos da membrana e o grupo hidroxila do colesterol através de grupos OH em C<sub>3</sub> ou C<sub>28</sub>, o que irá resultar na sua capacidade para formar micelas como agregados. Além disso, a região hidrofóbica da aglicona pode intercalar no interior hidrofóbico da bicamada. Ambos estes efeitos podem contribuir para a alteração do

ambiente em torno de proteínas da membrana lipídica. Tornou-se cada vez mais evidente que o ambiente de lipídeo de proteínas de membrana, incluindo os canais de íons, transportadores, e receptores, desempenha um papel importante na sua função. As proteínas modificadas de função ou glicoproteínas nas membranas plasmáticas têm sido sugeridas como sendo a causa de respostas secundárias bioquímicas induzidas por saponinas (FRANCIS et al., 2002).

Os detalhes precisos das interações entre saponinas e membranas precisam de mais esclarecimento para que os mecanismos moleculares envolvidos possam ser mais bem compreendidos. Parece provável que diferentes mecanismos são envolvidos nas ações de saponinas nas membranas, tais como a formação do complexo de saponina-colesterol, a formação de produtos de degradação de fosfolipídios, além de estrutura da saponina e sua orientação tridimensional (FRANCIS et al., 2002).

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Caracterização da área de estudo

Maragogipe é um município baiano situado a cerca de 133 km de Salvador, Bahia (Figura 1). É um município rico quanto aos recursos naturais apresentando potencial para o desenvolvimento de atividades relacionadas ao turismo ecológico, rural e náutico, inclusive com pesca desportiva. Está localizado ao fundo da Baía de Todos os Santos numa região constituída por mangues, baixios e tabuleiros, conhecida desde o século XVI por Recôncavo (BAHIA, 2010). Situado à direita do estuário do Rio Paraguaçu, mais precisamente fica no ponto de encontro deste rio com o Rio Guaí, cercado por aproximadamente 30 km de manguezais. Segundo IBGE (2010), sua população estimada em 2007 era de 42.079 habitantes.

Existem algumas versões para a origem do nome deste município. A primeira seria a de que esta denominação se deu por significar Rio dos Mosquitos, para os índios Aimorés, que se referiam ao local desta maneira, por ser cercado de extensos manguezais, habitat bastante propício a esses insetos. Outra versão seria a de que habitava a região índios da tribo Maragós, "braços invencíveis". Eram dedicados ao cultivo do solo, à pesca e à caça. Posteriormente, deslumbrados com a riqueza das matas e com a acessibilidade do sítio a qualquer embarcação, alguns exploradores resolveram fixar residência, dedicando-se a extração de madeiras, plantação de mandioca e de cana-de-açúcar, construção de engenhos e casas de farinha (BAHIA, 2010).

O município foi criado com território desmembrado de Jaguaripe e denominação de Maragogipe por Carta Régia de 17.12.1693 e Portaria de 16.12.1724. A sede foi elevada à categoria de cidade através da Lei Provincial de 08.05.1850, com a denominação de Patriótica Cidade de Maragogipe. Como outras cidades da região, traz uma forte tradição religiosa católica, mas também é comprometida com o Candomblé (GAZO, 2013).



Figura 1. Mapa de localização do município de Maragogipe na Bahia. Fonte: Brasil (2002); IBGE (2010) (adaptado).

Atualmente, a pesca, o artesanato de cerâmica e os serviços petroquímicos são as principais atividades econômicas do município (BAHIA, 2010).

### 3.2 Procedimentos de campo

O estudo foi realizado na cidade de Maragogipe, em 20 de novembro de 2011. Este território foi escolhido devido a informações prévias sobre o uso tradicional de venenos vegetais na pesca (COSTA NETO, comunicação pessoal). Antes da coleta de dados com os moradores locais, o projeto passou pela avaliação do Comitê de Ética da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e, após aprovação, os procedimentos de campo foram iniciados.

Participaram do estudo etnobotânico 50 pessoas, sendo 39 homens e 11 mulheres com idade variada, entre 17 e 69 anos. Para o levantamento de dados acerca do uso de plantas ictiotóxicas, foram aplicados questionários semiestruturados (Apêndice A) contendo perguntas relacionadas ao conhecimento e uso das plantas para facilitar a pesca. As entrevistas foram realizadas com alguns moradores em locais estratégicos, como feiras livres, colônias de pescadores e residências de moradores. Foram coletados dados, como o nome dos entrevistados, idade, profissão, sexo e o uso das plantas ictiotóxicas.

Foram registrados dados sobre condições de preparo e modos de administração do extrato vegetal para atrair peixes através de entrevistas com pessoas de ambos os sexos e idade variada. Os objetivos da pesquisa foram explicados de maneira clara no início de cada nova entrevista, perguntando-se aos moradores se consentiam em prestar informações e serem eventualmente

fotografados, autorizando sua participação através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). Poucos foram os casos em que o indivíduo não quis participar.

Para verificar a associação entre as informações prestadas e a frequência de ocorrência de espécies diferentes de plantas foi feita uma análise qualitativa de dados, procurando identificar categorias, padrões e relações entre os dados coletados, de forma a desvendar seu significado por meio da interpretação e da comparação dos resultados com outras pesquisas e referenciais teóricos.

Os dados foram analisados segundo o modelo de união das diversas competências individuais (MARQUES, 1991). Os controles foram feitos por meio de testes de verificação de consistência e de validade das respostas, recorrendo-se a entrevistas repetidas em situações sincrônicas e diacrônicas (ANDRADE, 2005). As primeiras ocorrem quando uma mesma pergunta é feita a pessoas diferentes em tempo bastante próximo e as segundas, quando uma pergunta é repetida à mesma pessoa em tempos bem distintos.

### **3.3 Coleta e identificação do material vegetal**

Uma vez estabelecida a participação da comunidade, a área de coleta foi definida de maneira conjunta entre os conhecedores locais, informados pela própria comunidade. A espécie foi fotografada e coletada, e informações relevantes para reconhecimento das espécies foram anotadas, além dos dados referentes à pesquisa etnobotânica. Não foram coletados dados socioeconômicos dos entrevistados.

Os entrevistados informaram o nome popular dado à planta utilizada por eles na pesca e a localidade para coleta do material vegetal. A planta foi coletada com a ajuda dos próprios entrevistados (Figura 2) na Fazenda Rosário, s/n, Povoado de Coqueiros, município de Maragogipe e levada para a UEFS, onde foram feitas exsiccatas, identificação e depósito, bem como foi separado o material vegetal a ser seco em estufa para seguir com os procedimentos fitoquímicos. A identificação taxonômica e o depósito foram feitos no Herbário da UEFS (HUEFS) e encontra-se registrada no banco de dados sob o número 178574.



Figura 2. Registro fotográfico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl (Phyllantaceae) - espécie coletada para estudo. Fotos da autora.

### 3.4 Obtenção dos extratos de *Phyllanthus acuminatus*

Duas metodologias foram utilizadas para a obtenção do extrato de *Phyllanthus acuminatus*: uma com o material vegetal fresco para reproduzir a metodologia realizada *in locu* por pescadores de Maragogipe; e a outra com o material seco para a obtenção dos extratos etanólico bruto, hexânico, clorofórmico e acetato de etila, os quais foram testados em larvas de *A. aegypti* no 3º estágio (Laboratório da Biofábrica Moscamed Brasil) e avaliada a sua ação como potencial bioinseticida.

#### 3.4.1 Obtenção do extrato aquoso da planta fresca

O sumo do material vegetal fresco foi obtido a partir da reprodução do método utilizado pelos pescadores de Maragogipe, embora com uso de equipamentos e técnicas de laboratório conforme a metodologia de Moreira (1979) modificada por Nakashima (1993). Foram utilizadas folhas frescas para a realização do estudo de bioensaio com larvas do *A. aegypti*.

Após coleta, a planta foi desfolhada (Figura 3) no Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON) da UEFS e foi preparado o seu extrato aquoso. Uma quantidade de

200mL de água foi adicionada a 100 g de folhas frescas fracionadas de *P. acuminatus* e batidos em um liquidificador, sendo repetido esse procedimento três vezes a fim de se obter três amostras de extrato aquoso. As folhas trituradas foram espremidas e o suco obtido acondicionado em um béquer para ser filtrado a vácuo. O extrato aquoso não foi fracionado, de modo que o bioensaio foi realizado com o mesmo sem qualquer preparo anterior, a não ser os indicados nas metodologias que seguem.

Para a filtração à pressão foi utilizada uma Bomba de Vácuo (MA 057/1 MARCONI), um Kitassato e um Funil de Büchner (Figura 4) onde foi colocado como material filtrante disco de papel de filtro umedecido em água destilada, aderido devido à sucção do vácuo, e celene (pó utilizado para facilitar a filtração, pois o extrato da planta forma um precipitado). Para o estudo em triplicata ao final deste processo foram obtidos 100 mL de suco para cada réplica armazenados em balões volumétricos de 100 mL.



Figura 3. *P. acuminatus* sendo desfolhada no LAPRON/UEFS. Foto da autora.





Figura 4. Bomba de Vácuo (MA 057/1 MARCONI), Kitassato e Funil de Büchner para filtração à pressão. Foto da autora.

### 3.4.2 Obtenção das frações da planta seca

A obtenção do extrato bruto da espécie selecionada a partir do material seco foi realizada no Laboratório Central, do Departamento de Saúde da UEFS. O material vegetal coletado (em torno de 0,5 kg) foi seco em estufa com temperatura controlada (50°C) e folhas e caule foram moídos até baixa granulometria em moinho de faca, separadamente. O pó de cada um foi armazenado em frascos Erlenmeyers de 6.000 L. Frascos Erlenmeyers menores foram tarados, preenchidos com o pó obtido da folha e do caule, completados com álcool etílico ( $C_2H_6O$  PM = 46,07 96%) e levados para ultrassom programado para 40 minutos. O conteúdo dos frascos erlenmeyers foi filtrado. A metodologia foi repetida com o material filtrado, ou seja, adição de mais etanol, ultrassom por 15 minutos e filtração usando papel filtro. O material vegetal utilizado para o preparo dos extratos foi seco e submetido a um processo de extração por ultrassom.

A obtenção dos extratos hexânico, clorofórmico e acetato de etila foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), Horto Florestal. O extrato bruto foi

concentrado no evaporador rotativo (Evaporador Rotativo SL 126 – Marca SOLAB e Evaporador IKA HB 10 digital), cuja temperatura foi programada em 65°C (temperatura de ebulição próxima a do etanol que é de 78,4°C). Ao evaporador rotativo foram acoplados balões de fundo chato, bomba a vácuo (TE 0581 – Marca TECNAL) programada em 600 atm. e banho ultratermostático (SL 152 – Marca SOLAB) programado em 0,5°C. O material resultante da folha e do caule retirado do evaporador rotativo foi acondicionado em frascos de vidro com tampa plástica de rosca, antes identificados e tarados em balança de 3.200g (SHIMADZU). Esse material, após concentração em evaporador rotativo, foi seco em capela de exaustão para evaporação natural até a cristalização e em alguns momentos passou por aquecimento em banho-maria a 60°C de forma que o etanol evaporasse e o extrato fosse obtido.

Com o material seco, a próxima etapa foi obter frações tanto das folhas quanto do caule utilizando solventes orgânicos de polaridades diferentes: hexano, clorofórmio e acetato de etila, nessa ordem, para a obtenção dos extratos hexânico, clorofórmico, aceto de etila e etanólico bruto (80%) (SILVA et al., 2004). O processo de fracionamento foi realizado em funil de separação. Do extrato bruto da folha, 10,8767g (pesado em Balança Analítica modelo APX-200) foram separadas 2,2500 g para testes com bioensaio. O restante foi diluído em 642,85 mL de etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) : água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) na proporção 7:3 e colocado no funil de separação onde se acrescentou 400 mL de hexano [ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ] dividido em três etapas. Cada solvente foi adicionado sendo agitado e recuperado em seguida em frasco à parte, correspondendo assim à fração obtida. O extrato hexânico obtido foi concentrado em evaporador rotativo a 60°C e, posteriormente, acondicionado em frasco de vidro tarado e depositado em capela apresentando massa final de 2,3151 g.

Após preparação da proporção 6:4 de etanol/água, ao funil de separação foi adicionado 375 mL clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) em três etapas. O extrato clorofórmico obtido foi concentrado em evaporador rotativo a 60°C, acondicionado em frasco de vidro e mantido na capela por alguns dias, sendo a massa final de 3,3620 g.

Ao extrato bruto restante (200 mL) foi adicionado mais 100 mL de água e 150 mL de acetato de etila ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ) em três etapas. O extrato acetato de etila obtido foi concentrado em evaporador rotativo a 60°C, acondicionado em frasco de vidro e mantido na capela por alguns dias, apresentando massa final de 0,0976 g. As Figuras 5, 6 e 7 mostram a partição realizada a partir do extrato bruto da folha. Após a adição de cada diferente solvente o extrato bruto foi levado à evaporação em evaporador rotativo e banho-maria para a retirada do excesso do produto. Após o fracionamento com cada um dos três solventes, obteve-se a fração hidroalcoólica, que corresponde ao líquido final do extrato bruto após cada partição com os solventes orgânicos. Todas as frações

estiveram acondicionadas em frascos rotulados e devidamente fechados em geladeira até o momento de seu uso.

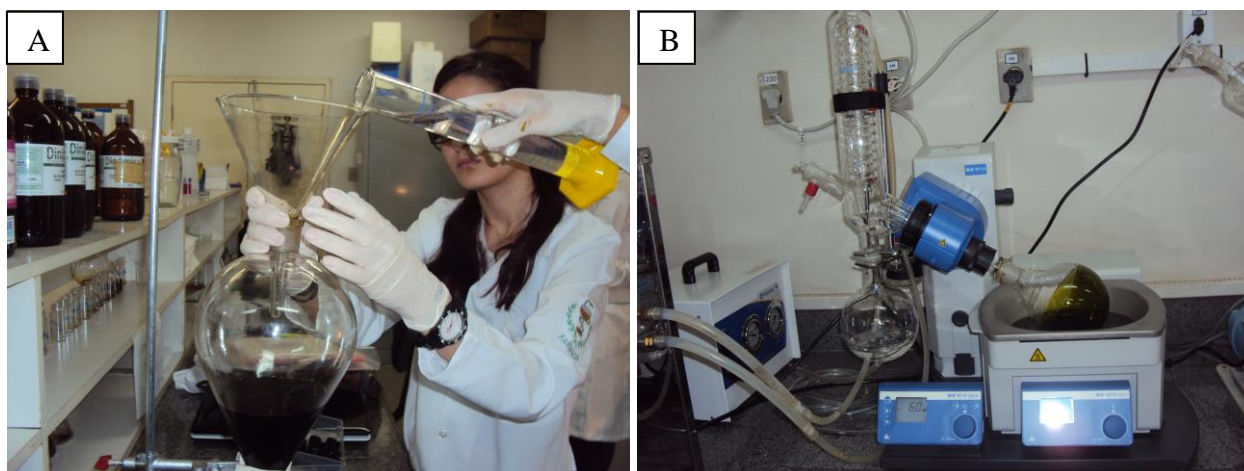


Figura 5. Partição com hexano. A – Adição de hexano ao extrato bruto e B – Evaporador rotativo com extrato hexânico. LAEX, Horto Florestal.

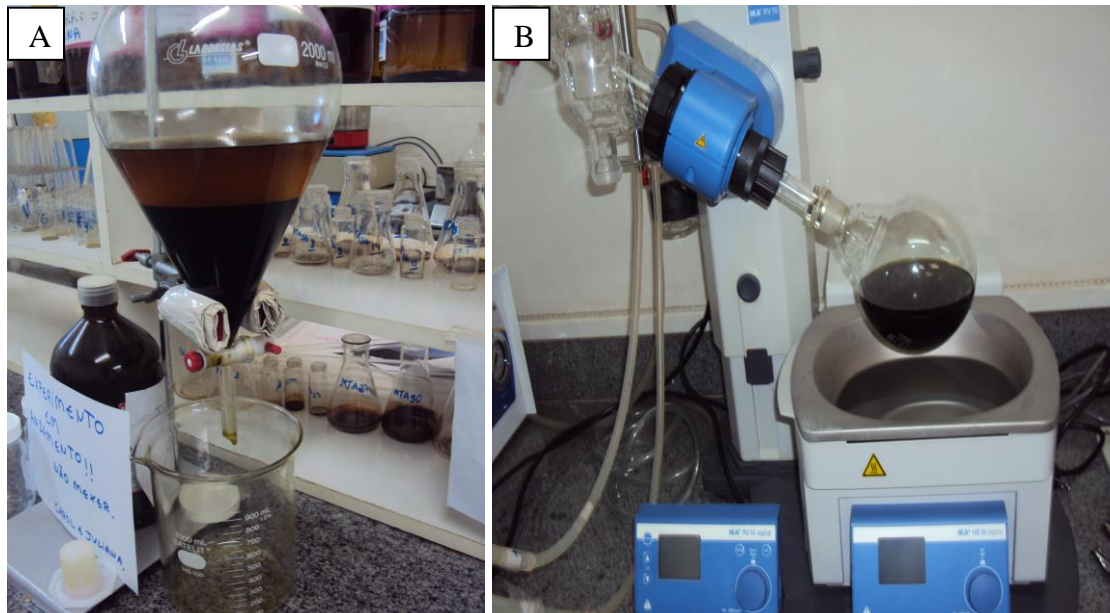


Figura 6. Partição com clorofórmio. A – Clorofórmio no funil de separação e B – Evaporador rotativo com extrato clorofórmico. LAEX, Horto Florestal.

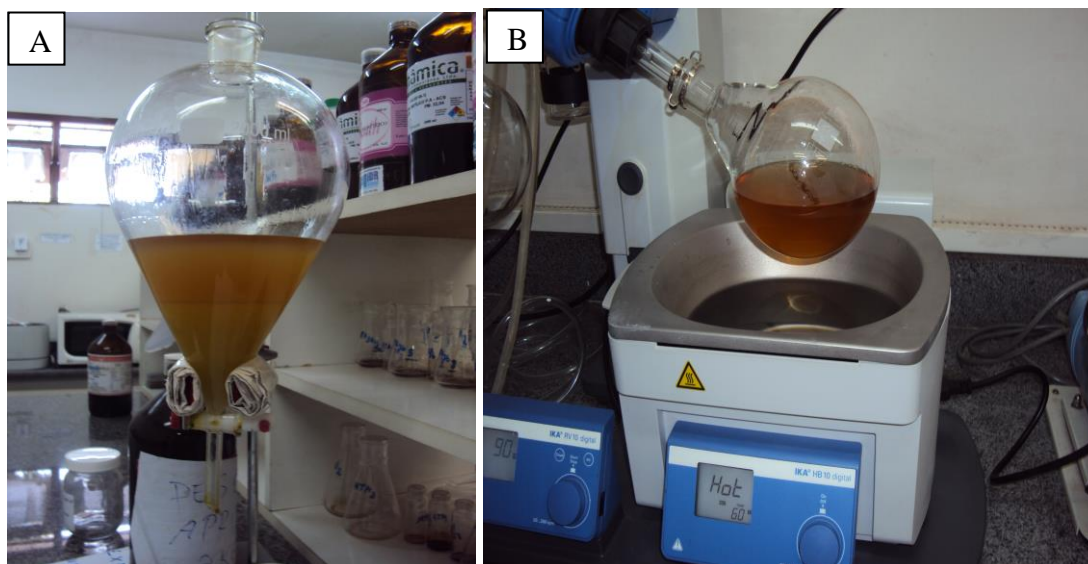


Figura 7. Partição com acetato de etila. A – Acetato no funil de separação e B – Evaporador rotativo com extrato acetato de etila. LAEX, Horto Florestal.

Do extrato bruto do caule (1,1671g – pesado em Balança Analítica modelo APX-200) foi separado 0,1021 g e o restante foi diluído em 562,5 mL de etanol : água na proporção 8:2 e colocado no funil de separação onde foi acrescentado 250 mL de hexano em três etapas. Após concentração em evaporador rotativo a 60°C, a massa final do extrato hexânico foi de 0,25 g. A partição continuou com o uso do solvente clorofórmio (375 mL) adicionado à proporção 6:4 de etanol/água. Após concentração em evaporador rotativo a 60°C, a massa final do extrato clorofórmico foi de 0,3683 g. Ao líquido restante (160 mL) foi adicionado mais 140 mL de água e 150 mL de acetato de etila. Após concentração em evaporador rotativo a 60°C, a massa final do extrato acetato de etila foi insignificante, sendo desprezada.

### 3.5 Ensaio com extrato aquoso

A pesquisa de heterosídeos saponínicos foi feita através do ensaio da espuma. Em três tubos de ensaio foram adicionados 2 mL do extrato aquoso. Cada um deles foi agitado energeticamente, durante cinco minutos, de forma manual. A altura do anel de espuma formado logo após a agitação foi medida. Caso o anel de espuma persistisse em um tamanho igual ou maior que 1 cm após o repouso indica a presença de heterosídeos saponínicos.

### 3.6 Obtenção e manutenção de larvas do *A. aegypti*

Para a realização dos experimentos foram coletados ovos de *A. aegypti* provindos de Armadilhas para Ovos (APO) conhecidas como ovitrampas instaladas em pontos da cidade de Jacobina/BA (Figura 8) por técnicos da Biofábrica Moscamed Brasil.

Os testes com o sumo da planta fresca foram realizados no LAPRON e os ovos do *Aedes* foram enviados por técnicos da Biofábrica Moscamed. Os testes com os extratos bruto, hexânico, clorofórmico e acetato de etila foram realizados no Laboratório da Biofábrica, devido a estrutura física adequada para a demanda de extratos a serem testados, nas mesmas condições de temperatura e umidade do primeiro bioensaio, seguindo a mesma metodologia para ambos.



Figura 8. Armadilha utilizada para captura de ovos do mosquito *Aedes aegypti* no município de Jacobina/BA. Fotos da autora.

Para os bioensaios, os ovos de *A. aegypti* obtidos (Figura 9) foram colocados em recipientes de vidro contendo água isenta de cloro para eclodirem à temperatura ambiente (Figura 10). Em condições normais, os ovos maduros eclodem quando submersos em meio líquido e apresentam quatro estágios larvários. Após 15 minutos todo o conteúdo foi despejado em bandejas de plástico brancas para obtenção do número máximo de larvas. As larvas resultantes foram criadas em temperatura de 25°C até atingirem o terceiro estágio, fase em que estão mais resistentes (SILVA et al., 2003). Durante os testes as larvas foram mantidas em câmara B.O.D. (25+ 1°C), umidade relativa de 70+10% e fotofase de 14 horas.

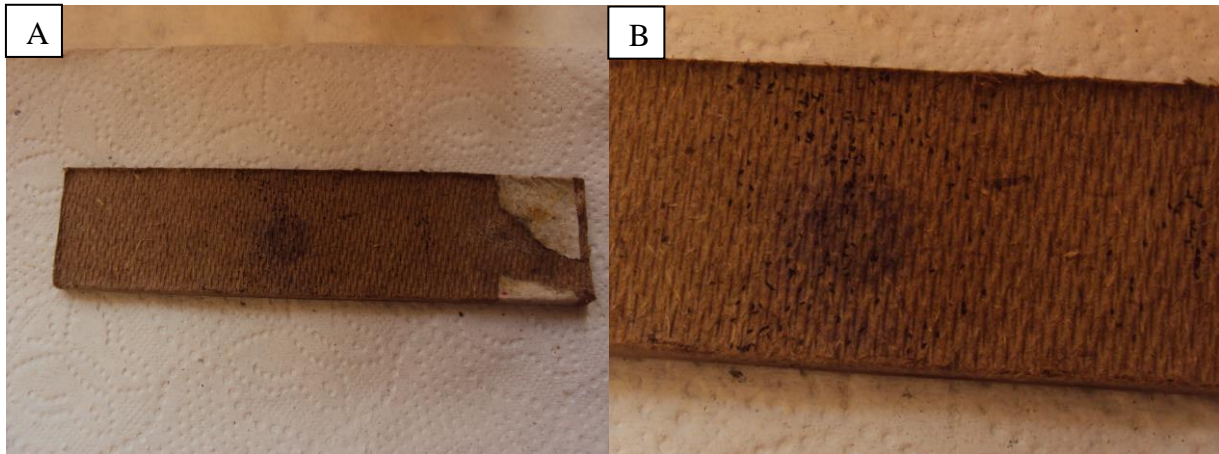


Figura 9. A e B – Ovos obtidos do mosquito *Aedes aegypti* no município de Jacobina/BA. Fotos da autora.

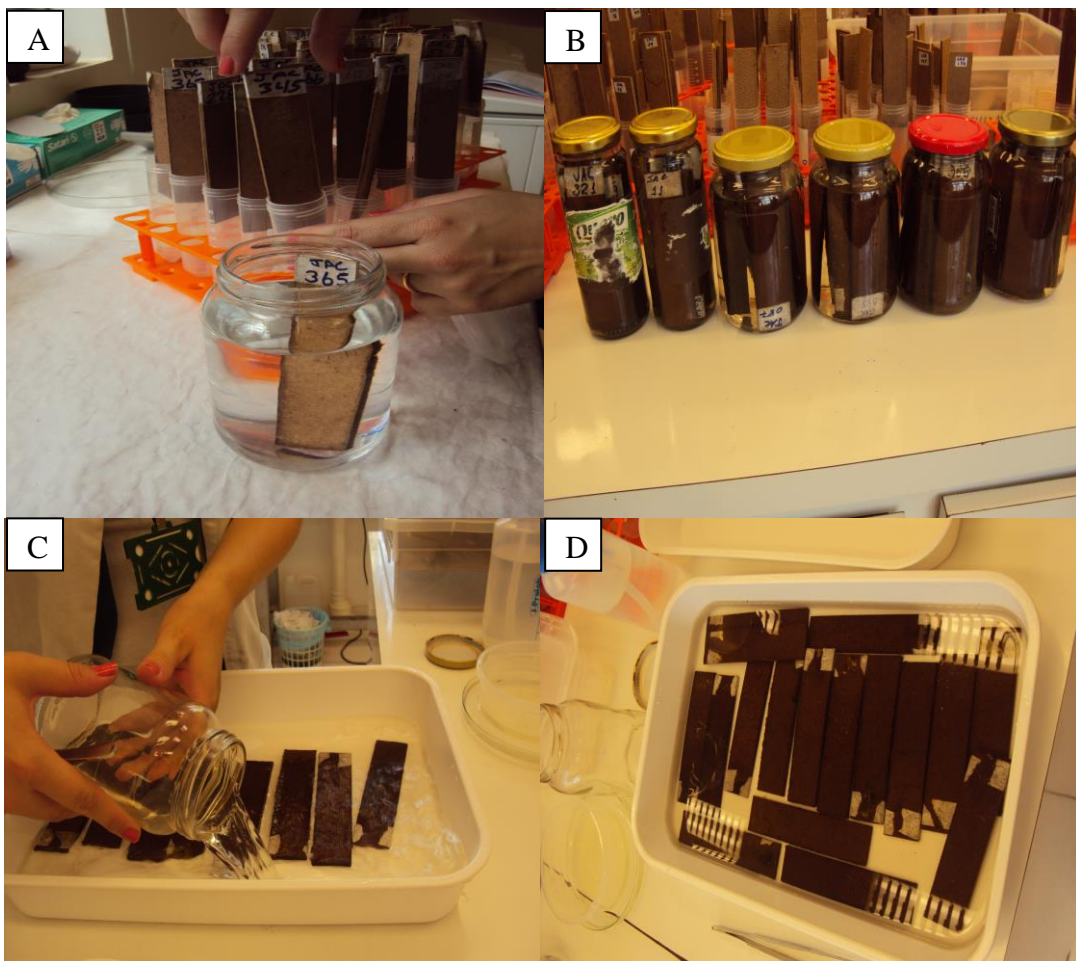


Figura 10. A, B, C, D – Eclosão dos ovos em vasos de vidro e em bandejas contendo água. Fotos da autora.

### **3.7 Instalação do bioensaio com larvas de *A. aegypti***

#### **3.7.1 Bioensaio com o material vegetal fresco**

Com o sumo fresco foi feito um teste no LAPRON (UEFS) com as larvas antes mesmo da filtração a vácuo para verificar as concentrações mínima e máxima para a mortalidade, e depois cinco proporções diferentes foram preparadas para a realização dos testes definitivos. Foram preparados seis tubos de ensaio, três com 10 mL de sumo concentrado e três com a concentração de 1 mL de sumo/9 mL de água destilada, representando estudo em triplicata nas duas diferentes concentrações. Em cada tubo foram adicionadas dez larvas em terceiro estágio e o resultado foi analisado com 24 horas. Para o extrato que provocou mortalidade até 90%, novos testes em concentrações menores foram realizados para estimativa do desvio padrão.

Para a instalação do bioensaio, foram preparadas quatro proporções diferentes (1,0; 0,50; 0,25 e 0,125 mL com o uso de micropipeta) para cada réplica sendo que todas foram completadas até 10 mL com água destilada em balões volumétricos de 10 mL. Paralelamente foram feitos testes em branco, chamado de controle. Para cada amostra, dez larvas de 3º estágio foram acrescentadas. Os testes foram feitos em triplicata (OLIVEIRA et al., 2002; COELHO et al., 2009). Cada concentração e controle foram colocados em tubos de ensaio contendo dez larvas (separadas com o auxílio de uma pipeta Pasteur). No controle sem tratamento foram colocados água destilada e dez larvas do mosquito. As larvas tratadas e o controle foram mantidos sob as mesmas condições da criação. Após 24h e 48h, os resultados foram observados nos tubos de ensaio e feita a contagem do número de larvas vivas (quando sobem serpenteando para a superfície) e mortas (permanecem no fundo) através de estímulo mecânico com uso de pinça.

#### **3.7.2 Bioensaio com o material vegetal seco**

O início do bioensaio ocorreu com a instalação dos testes em triplicata. A avaliação do efeito dos extratos sobre as larvas foi realizada a partir do método utilizado por Coelho *et al.* (2009).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg /mL, 125 µg /mL, 62,5 µg /mL) e três repetições. As placas de Petri foram identificadas na tampa com informações sobre a parte do material vegetal utilizada (caule ou folha), o tipo de extrato (se hexânico, clorofórmico, acetato de

etila ou etanólico bruto), as concentrações a serem testadas, a data do experimento e o nome do executor do projeto.

Os extratos para os testes biológicos foram pré-solubilizados separadamente em dimetilsulfóxido (DMSO), formando uma solução-mãe, e armazenados em pequenos recipientes de plástico com tampa para maior precisão já que as concentrações a serem trabalhadas eram baixas e difíceis de precisar (COELHO et al., 2009). Foram ao todo quatro tipos de extratos: hexânico, clorofórmico, acetato de etila e etanólico bruto. Os testes foram realizados em triplicata e em placas de Petri (Figura 11). Como controle, foram utilizados DMSO e água.

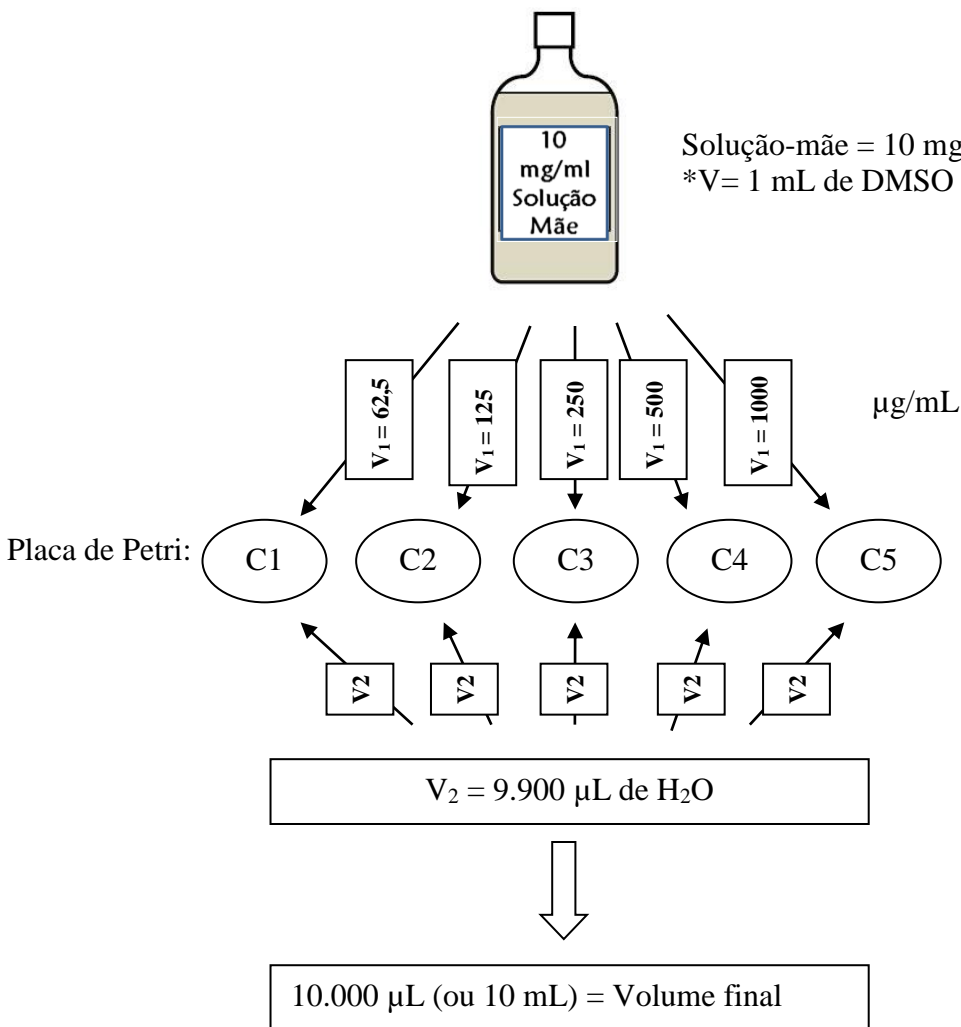


Figura 11. Demonstração da preparação da solução-mãe e das placas de Petri com as diferentes concentrações para cada extrato.



Cada extrato seco foi testado em cinco concentrações diferentes e 10 mg de cada extrato foram, separadamente, dissolvidos em 1 mL de dimetilsulfóxido formando uma solução-mãe. A partir dessa solução-mãe uma série de diluições foi preparada com água e completada com DMSO até a obtenção das concentrações desejadas para cada extrato. Adicionou-se a cada mistura 9.900  $\mu\text{L}$  de água destilada, sendo o restante completado com a quantidade de DMSO proporcional a cada concentração da placa usando a micropipeta para maior precisão (Figura 12). Não foi acrescentado DMSO à placa com 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Cada placa de Petri no final continha uma quantidade de 10.000  $\mu\text{L}$  correspondente à quantidade de extrato, água e DMSO (Tabela 1). No caso do controle, esse valor correspondeu à quantidade de água e DMSO.

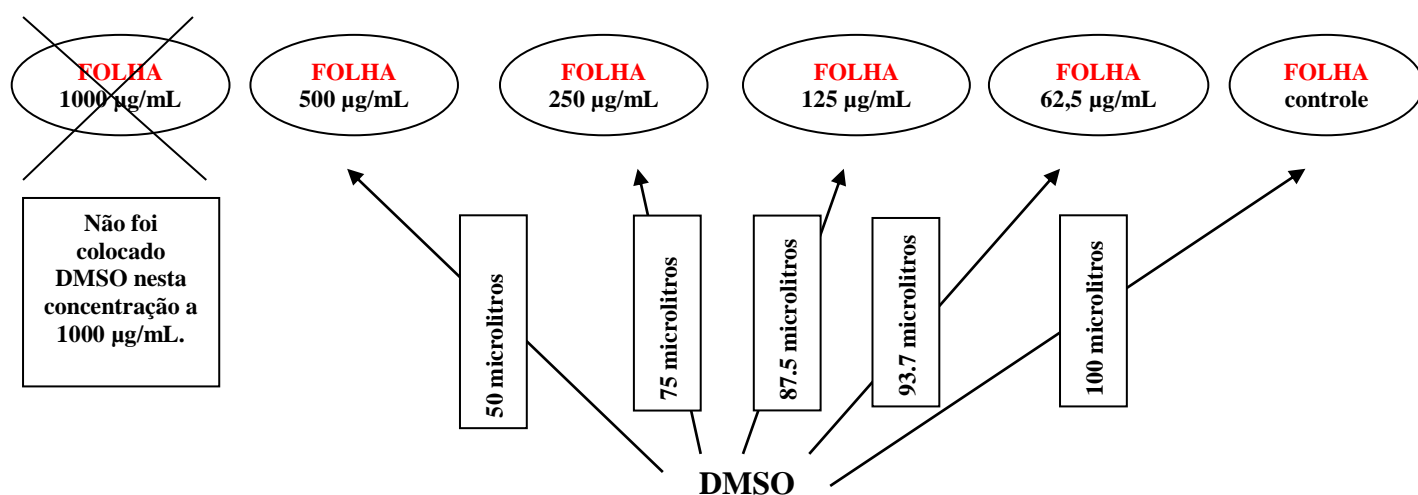


Figura 12. Adição de DMSO às placas de Petri com o extrato a ser testado.

Tabela 1. Quantidade de extrato,  $\text{H}_2\text{O}$  e DMSO para cada uma das cinco concentrações a serem testadas.

CONCENTRAÇÃO	EXTRATO ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\text{H}_2\text{O}$ ( $\mu\text{L}$ )	DMSO ( $\mu\text{L}$ )
C1	1000	9.900	-
C2	500	9.900	50
C3	250	9.900	75
C4	125	9.900	87,5
C5	62,5	9.900	93,7
Controle	-	9.900	100

Para a realização do bioensaio, ovos do *A. aegypti* foram eclodidos e, em seguida, as larvas foram separadas em bandejas brancas com água destilada. Para cada placa de Petri foram adicionadas 10 larvas com auxílio de uma pipeta Pasteur. Após o acréscimo das larvas em cada placa de Petri, todas as placas foram colocadas na câmara B.O.D., ajustando a temperatura e o horário. Com 24 e 48 horas a câmara foi aberta e verificado se houve mortalidade das larvas.

### **3.8 Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, no caso de efeito significativo dos tratamentos, as interações também passaram por um procedimento estatístico para um maior aprofundamento desses efeitos. Na análise do bioensaio com o material fresco, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram feitas por meio do Programa Estatística, usando sempre 95% de confiança.

Para a análise do bioensaio com o material seco, foi utilizado o programa GraphPad Prism, uma combinação de bioestatística, ajuste de curva (regressão linear) e gráficos científicos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudo etnobotânico

Os moradores que participaram da entrevista semiestruturada possuem idade variada, o que demonstra que o conhecimento local é difundido através de gerações, contribuindo para a caracterização de determinada comunidade quanto à cultura, formas de relacionamento e interação com o meio ambiente. Segundo Moreira (2007), o conhecimento tradicional é a forma mais antiga de produção de teorias, experiências, regras e conceitos, isto é, a mais ancestral forma de produzir ciência.

Os entrevistados informaram que a pesca utilizando plantas nativas é uma prática antiga e, atualmente, embora alguns pescadores ainda prefiram esse método, poucos são aqueles que realmente o seguem. Isso se deve ao receio de serem descobertos por alguma instituição ligada à preservação do meio ambiente, já que, segundo os mesmos, o efeito da planta quando utilizada para fins de pesca é forte e pode afetar outros seres vivos, provocando um desequilíbrio no ambiente estuarino-marinho.

A pesca com plantas ictiotóxicas foi citada como mais rápida e prática, pois a partir do sumo jogado no estuário pelo pescador é possível pegar peixes, inclusive em maior quantidade. Os pescadores informaram que a espécie utilizada na localidade é conhecida popularmente como tingui ou folha do mangue. No HUEFS a planta foi identificada como *Phyllanthus acuminatus* Vahl, arbusto com cerca de 2m de altura, flores esbranquiçadas e frutos jovens, pertencente à família Phyllantaceae.

Durante entrevista com a comunidade de Maragogipe, a maioria dos participantes informou sobre o potencial tóxico de *P. acuminatus* para a captura de peixes, corroborando com a literatura. Em Mocoa (Colômbia) e em comunidades andinas da Bolívia é usada como veneno para a pesca, tal como relatado por Acevedo-Rodriguez (1990) e Muñoz *et al.* (2000). Essa planta é comumente utilizada como veneno de pesca por comunidades indígenas (CABIESES, 1993).

Como a região de Maragogipe foi habitada a priori por índios da tribo Maragós, cujo um dos hábitos era a pesca, provavelmente eles tenham começado com a cultura de utilizar plantas tóxicas para facilitar a pesca e essa prática foi sendo transmitida, inclusive depois da colonização. Segundo Lorenzi e Matos (2002), no Brasil, antes mesmo do seu “descobrimento”, os índios já possuíam uma intensa relação com as plantas e seus conhecimentos eram transmitidos de geração a geração.

Os entrevistados informaram que *P. acuminatus* é comumente encontrada na região litorânea (mangue), podendo ser vista também em quintais de casa próximos a este ecossistema. Aparentemente, os pescadores de Maragogipe recorrem ao uso do tingui quando está difícil encontrar peixes, uma vez que foi registrado que quando está ruim para pescar lançando-se mão de métodos tradicionais, o sumo da planta é preparado e jogado no rio. Segundo informações locais quando os peixes entram em contato com este sumo eles veem à superfície facilitando captura (Sr. G. S., 19 anos). Esse entrevistado já admitiu ter feito uso desse método e afirma que realmente funciona.

De acordo com os entrevistados, a subida dos peixes à superfície proveniente do sumo jogado no rio ocorre porque eles ficam aturdidos com o cheiro forte eliminado pelo vegetal (Sr. A. S., 36 anos) e, portanto, sobem em busca de oxigênio (Sr. M. O., 25 anos; Sra. D. S., 42 anos). “*Os peixes quando entram em contato com essas plantas ficam lerdos*” (Sr. T. S., 53 anos). Alguns entrevistados acreditam que o sumo de *Phyllanthus* “rouba” o oxigênio da água deixando os peixes sem ter como respirar (Sr. E. T., 33 anos, Sr. J. A.; 53 anos; Sr. M. R., 36 anos). Céron e Montalvo (1998) associaram esta atividade à presença de triterpenos e glicosídeos cianogênicos principalmente nas folhas, o que causaria asfixia nos peixes. Outra espécie do mesmo gênero, *P. pseudoconamii* também é usada como ictiotóxica entre os Huaorani do Equador. Segundo Spargh (2004), as saponinas, glicosídeos do metabolismo secundário vegetal, têm ação sobre as membranas das células das brânquias em alguns peixes causando desorganização das mesmas, levando à dificuldade na respiração.

Segundo os informantes, o peixe pescado através desse método pode ser usado como isca para pegar peixes maiores (Sr. G. S., 19 anos; Sr. C. B., 25 anos; Sr. T. S., 53 anos). “*Essa planta ajuda na pescaria porque o marisco sai da casa dele*” (Sr. G. S., 19 anos). Segundo informações, os peixes comumente capturados com o uso do vegetal são: mirim, mutuca, tilápia, acará (Sr. I. S., 46 anos; Sr. E. T., 33 anos; Sr. A. S., 64 anos), jundiá, cambotá (Sr. J. S., 37 anos; Sra. V. S., 50 anos; Sr. M. B., 35 anos) e sinhá de engenho (Sr. E. T., 33 anos).

Alguns afirmaram que o sumo somente deixa os peixes tontos durante a pescaria (Sr. J. A., 33 anos), enquanto que outros informaram que depois de “tonto” o peixe morre (Sr. I. S. 46 anos).

Quando questionados sobre o risco de contaminação de seres humanos ao comer os peixes pescados dessa forma, afirmaram que não há perigo, pois a carne dos peixes não é contaminada (Sr. A. S., 64 anos). Cabieses (2007) destaca que os extratos alcoólico e aquoso de *Phyllanthus* têm uma baixíssima toxicidade para mamíferos, mas são muito tóxicos aos peixes e anfíbios. Além disso, saponinas, substâncias presentes em *P. acuminatus*, tendem a causar benefícios à saúde humana quanto à redução do colesterol (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAG; MAZZA, 2007).

Quanto a outros usos além da pescaria, alguns pescadores informaram que na comunidade já houve uso do sumo de *Phyllanthus* para matar pulgas e carrapato de animais domésticos (Sr. J. S., 37 anos), já foi utilizado para matar gato (Sra. C. O., 48 anos) e até mesmo um cidadão local usou como fumo, embora quase tenha morrido (Sr. A. S., 64 anos). Alguns entrevistados citaram o uso do sumo como repelente, relatando sucesso, e que não houve qualquer sensação de desconforto ou intoxicação em contato com a pele (Sra. D. S., 42 anos). Para este fim, o sumo da planta é obtido da mesma maneira, através da mistura com água. “*Eu já até usei nos braços e pernas para espantar muriçoca e mosquito da dengue e funcionou*” (Sra. D. S., 42 anos).

#### **4.2 Ensaio com extrato aquoso**

O ensaio feito com o extrato aquoso para identificar a presença ou não de saponina no vegetal revelou que devido à formação de um anel de espuma de 1 cm após a agitação e mesmo depois do repouso das amostras, o extrato possui heterosídeos saponínicos. Esse resultado corrobora com outros estudos realizados com o gênero (CÁRDENAS-LÓPEZ et al., 2002).

#### **4.3 Avaliação do bioensaio com o sumo fresco de *P. acuminatus* sobre larvas de *A. aegypti***

O teste inicial realizado no LAPRON antes da filtração a vácuo foi importante para verificar se a planta tem potencial bioinseticida. O estudo do bioensaio realizado em triplicata nos tubos de ensaio, contendo sumo na concentração de 10 mL e dez larvas em cada, demonstrou mortalidade de 100%. Em concentração menor, 1 mL de sumo/9 mL de água destilada, em cada um dos tubos de ensaio, foram encontradas, após 24 horas, nove larvas mortas e apenas uma viva, indicando mortalidade de 90%.

O sumo concentrado a 10 mL usado neste teste apresentou, depois de 24 horas, um precipitado no fundo do tubo de ensaio, onde foram encontradas as larvas mortas. As larvas morreram provavelmente pelo excesso de precipitado armazenado no fundo dos tubos o que pode ter atrapalhado seu movimento e dificultado sua subida à superfície para realizar a respiração. A

grande quantidade de substância tóxicas, a exemplo da saponina, também pode ter contribuído para a mortalidade. Na concentração 1 mL de sumo/9 mL de água destilada as larvas encontradas mortas não estavam submersas no precipitado, principalmente porque a quantidade de material vegetal depositado no fundo dos tubos de ensaio foi insignificante comparado à concentração a 10 mL de sumo puro. Por isso, para os testes definitivos, a concentração maior ficou definida em 1,0 mL do sumo e as demais a metade do valor da proporção anterior (0,50; 0,25 e 0,125 mL).

Mesmo depois do sumo ser filtrado a vácuo, o que possibilitou a eliminação de precipitado no fundo dos tubos de ensaio, uma porcentagem significativa de larvas morreu na concentração a 1,0 mL.

Nos testes definitivos, foram preparadas quatro proporções diferentes (1,0; 0,50; 0,25 e 0,125 mL) mais o controle (Figura 13), todos com 10 larvas em cada réplica (Figura 14). Após 24 horas de teste os tubos foram analisados a fim de verificar mortalidade de larvas do *Aedes* (quando as larvas permanecem no fundo). A concentração de 1,0 mL foi a mais significativa para mortalidade, visto que chegou a matar 30% das larvas em triplicata. Na proporção 0,50 mL de sumo filtrado, a maioria das larvas encontrava-se viva. Nas concentrações 0,125 e 0,25 mL as larvas permaneceram vivas serpenteando na superfície. A média dos resultados obtidos pôde ser observada através da análise do Teste de Tukey baseado na amplitude total estudentizada (“*studentized range*”, em inglês). Esse teste é importante porque compara todo e qualquer contraste entre duas médias de tratamentos, além de ser exato e de uso simples quando o número de repetições é o mesmo para todos os tratamentos (OLIVEIRA, 2008).



Figura 13. Estudo em triplicata das quatro concentrações diferentes mais o controle. Foto da autora.

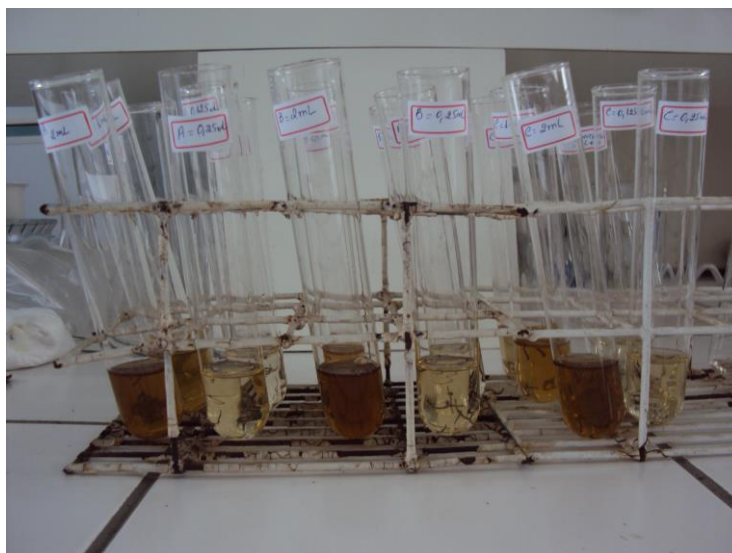


Figura 14. Testes com as cinco concentrações em tubos de ensaio e larvas de *A. aegypti*. Foto da autora.

As médias obtidas nas avaliações de cada concentração foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 2). Conforme os dados analisados, os tratamentos B (0,50 mL) e C (0,250 mL) não diferem estatisticamente entre si, assim ocorre entre os tratamentos D (0,125) e controle. O tratamento A, que corresponde à concentração de 1 mL, mostrou ser estatisticamente diferente dos demais tratamentos e revelou-se a melhor dose a ser utilizada, uma vez que foi capaz de eliminar 30% de larvas do mosquito (Figura 15).

Tabela 2: Média dos resultados obtidos mais desvio padrão do índice de mortalidade (%) da larva do mosquito *A. aegypti* frente ao extrato bruto de *P. acuminatus* em diferentes concentrações.

TRATAMENTO	DOSE (mL)	MORTALIDADE (%)
A	1,0	30,0± 16,32
B	0,5	13,3 ± 5,0
C	0,25	13,3 ± 5,0
D	0,125	0,0
CONTROLE	0,0	0,0



Figura 15. Larvas imersas na concentração a 1 mL com 30% mortas. Foto da autora.

Durante filtração à vácuo foi verificada a presença de espuma, o que mais uma vez caracteriza a presença de heterosídeos saponínicos (Figura 16). Análises realizadas por Cárdenas-López e seus colaboradores (2002) mostraram a presença de flavonóides, taninos, saponinas, esteróides, triterpenóides, cumarinas e outros terpenóides em *P. acuminatus*. Para Cabieses (2007), a espécie contém saponinas que a faz útil como veneno de pesca. Saponina é um surfactante natural produzido por plantas e também por alguns animais marinhos e bactérias, sendo que este ativo apresenta importantes ações como redução da taxa de colesterol e triglicerídeos sanguíneos, efeito imunogênico, redução da produção de amônia e controle de parasitas, além de atividade hemolítica, ictiocida e inseticida (FRANCIS et al. 2002; CHEEKE, 2002).

A atividade hemolítica é atribuída à interação entre as saponinas e os esteróis da membrana do eritrócito, causando aumento de permeabilidade e sua ruptura da célula (SPARG et al., 2004). Wang e colaboradores (2007) associaram a atividade hemolítica à estrutura das saponinas e concluíram que, a partir da mesma aglicona, as saponinas que apresentam cadeias de monossacarídeos maiores geram maior atividade hemolítica.



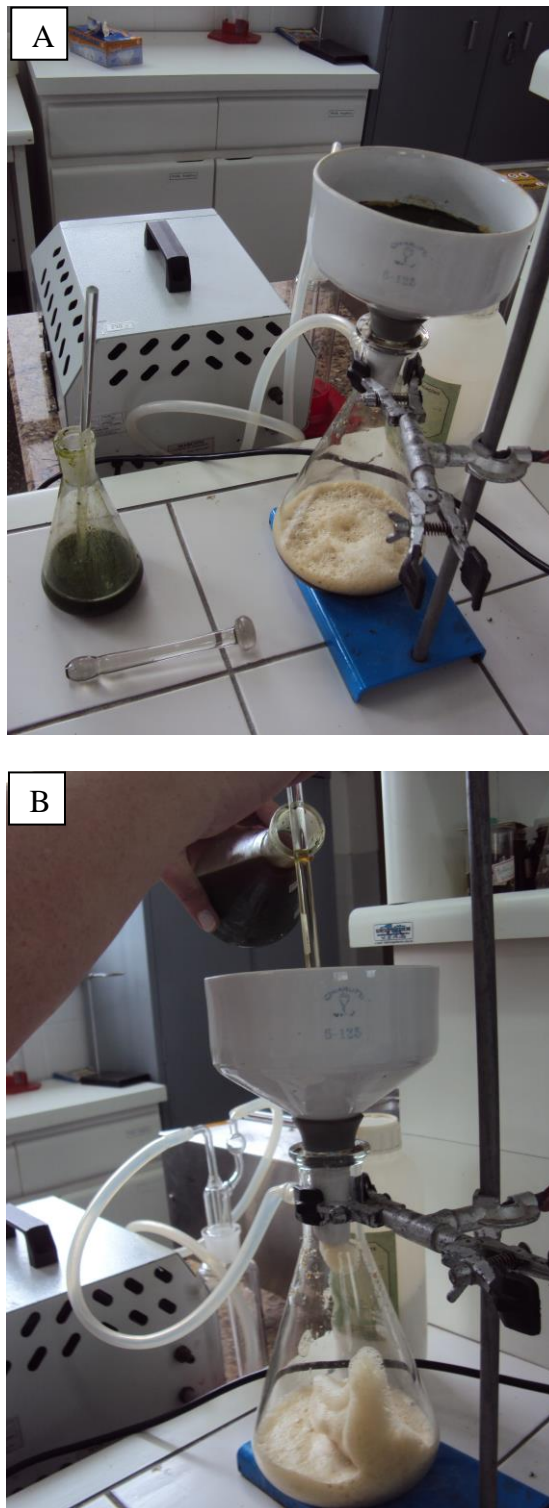


Figura 16. A e B - Presença de espuma durante a filtração à vácuo o que caracteriza a presença de heterosídeos saponínicos. Fotos da autora.

Muitas saponinas são capazes de causar desorganização das membranas das células sanguíneas (ação hemolítica) ou das células das brânquias em peixes (ação ictiotóxica) (SPARG et al., 2004). Com essa ação, os peixes perdem o equilíbrio de membrana, ocorre dificuldade na respiração e, aturdidos, sobem à superfície facilitando sua captura. O efeito com as larvas de *Aedes*

pode ter sido semelhante, via ingestão e compostos químicos, a exemplo da saponina, podem ter atuado em nível de membrana causando asfixia ou pode ter causado uma desorganização das células das brânquias das larvas utilizadas no bioensaio.

A larva do *A. aegypti* é composta de cabeça, tórax e abdômen. O abdômen é dividido em oito segmentos. O segmento posterior e anal do abdômen têm quatro brânquias lobuladas para regulação osmótica (FUNASA, 2001). Dessa forma, é possível que saponinas tenham tido ação na regulação osmótica desses organismos, causando um desequilíbrio quanto à absorção de íons da água (captação de sais por transporte ativo). Isso sugere que a planta apresenta certa atividade bioinseticida e que talvez em concentrações maiores esse resultado ultrapasse as expectativas.

Existem inúmeros trabalhos descrevendo o uso de produtos naturais (YANG et al., 2002; ARAUJO et al., 2003; ALBUQUERQUE et al., 2004), inclusive de saponinas como agentes larvicidas (PELAH; ABRAMOVICH; WIESMAN, 2002). Santiago *et al.* (2005) estudou o potencial larvicida das saponinas isoladas a partir das espécies vegetais de *Pentaclethra macroloba* Willd. Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen. (Boraginaceae) sobre larvas do mosquito *A. aegypti* com o objetivo de encontrar produtos naturais eficazes e seguros e que no futuro possam substituir os compostos organofosforados ou outros agentes sintéticos. O resultado do bioensaio mostrou que as saponinas de *C. piauhiensis* não apresentaram atividade larvicida, enquanto que *P. macroloba* provocou mortalidade das larvas, confirmando, portanto, a atividade inseticida apresentada pelas sementes encontrada na literatura (CHUN et al., 1994). Além do mais, observou-se um maior potencial larvicida para as saponinas monodesmosídicas e com um menor número de unidades de açúcares.

#### **4.4 Avaliação do bioensaio com os extratos etanólico bruto, hexânico, clorofórmico e acetato de etila de *P. acuminatus* sobre larvas de *A. aegypti*.**

Para os testes com diferentes extratos de *P. acuminatus*, foram preparadas em placas de Petri cinco proporções diferentes (1,0; 0,50, 0,25, 0,125 e 0,0625 mL) tanto do caule como da folha mais a placa-controle para ambos. Após 24 e 48 horas de bioensaio as placas de Petri foram analisadas para verificar se havia larvas mortas. Com extrato etanólico bruto a maioria das larvas não morreu após 24 horas (Figura 17).

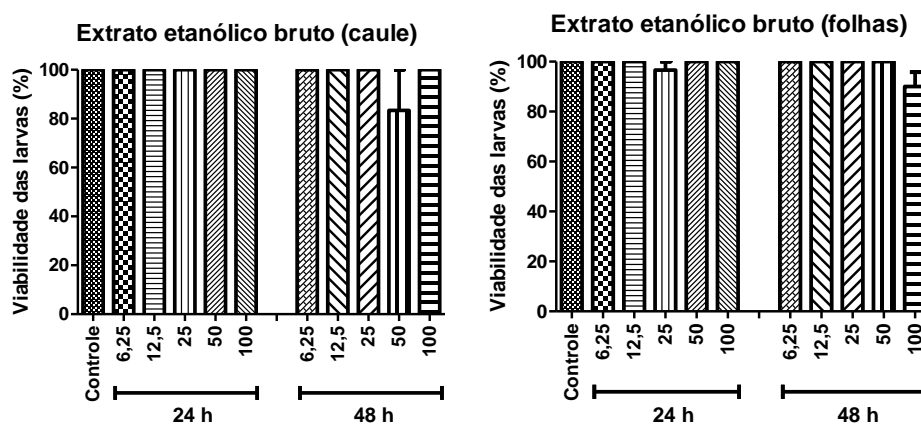


Figura 17. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito *A. aegypti* frente ao extrato etanólico bruto de *P. acuminatus* em diferentes concentrações.

O extrato etanólico bruto do caule não apresentou mortalidade de larvas durante as primeiras 24 horas e somente na concentração de 0,50 mL teve resultado significativo, enquanto que com o extrato bruto das folhas a maioria das larvas encontrava-se viva em 24 horas, apresentando resultado favorável para 1,0 mL após 48 horas. Já foi verificada ação inseticida de extratos brutos ou moléculas isoladas de *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) em larvas de *A. aegypti* (WANDSCHEER et al., 2004).

Quanto ao extrato hexânico do caule após 24h e 48h o efeito da planta sobre as larvas foi o mesmo, ou seja, apenas a concentração de 100  $\mu$ g apresentou alteração, embora insignificante pela quantidade de larvas mortas (Figura 18). Pimenta e seus colaboradores (2006) sugeriram que larvas de *A. aegypti* foram mortas pelo extrato hexânico dos frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae), considerado um promissor agente larvicida.

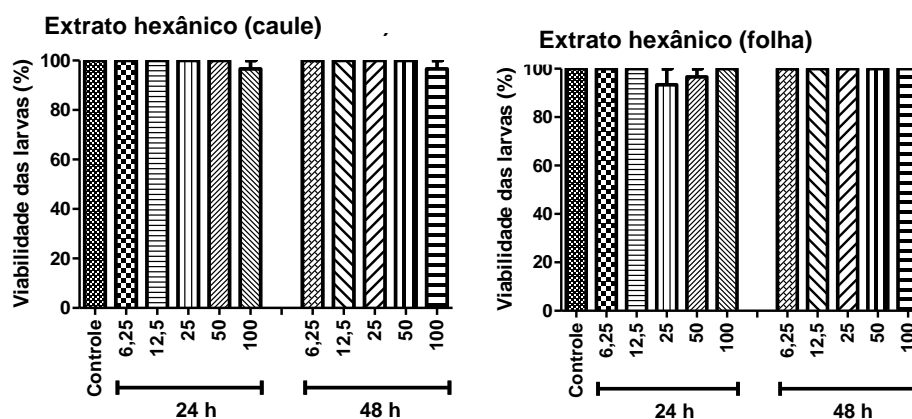


Figura 18. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito *A. aegypti* frente ao extrato hexânico de *P. acuminatus* em diferentes concentrações.

No extrato hexânico da folha, em 24 horas as concentrações 25 µg e 50 µg apresentaram alterações quanto à viabilidade das larvas. Após 48 horas não houve mais mortalidade para as larvas em nenhuma das concentrações preparadas.

Os testes com o extrato clorofórmico do caule demonstraram que não houve efeito larvicida em nenhuma das cinco concentrações de *P. acuminatus* testadas, mesmo decorrido 48 horas, o que demonstra que o caule não tem quantidades significativas de metabólitos com efeitos larvicidas (Figura 19).

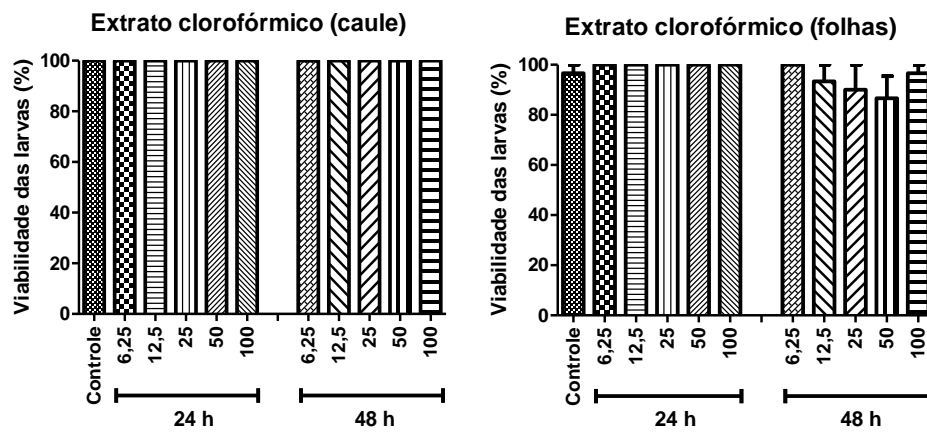


Figura 19. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito *A. aegypti* frente ao extrato clorofórmico de *P. acuminatus* em diferentes concentrações.

O bioensaio com as folhas revelou mortalidade de larvas somente após 48 horas nas concentrações 0,125 mL, 0,25 mL, 0,50 mL e 1,0 mL, sendo que o resultado foi significativo para a concentração de 0,50 mL.

Quanto ao extrato acetato de etila, caule e folhas apresentaram o mesmo resultado, nas concentrações 0,25 mL e 0,50 mL algumas larvas morreram com 24 horas, enquanto que nas demais concentrações foram encontradas vivas serpenteando na placa de Petri (Figura 20).

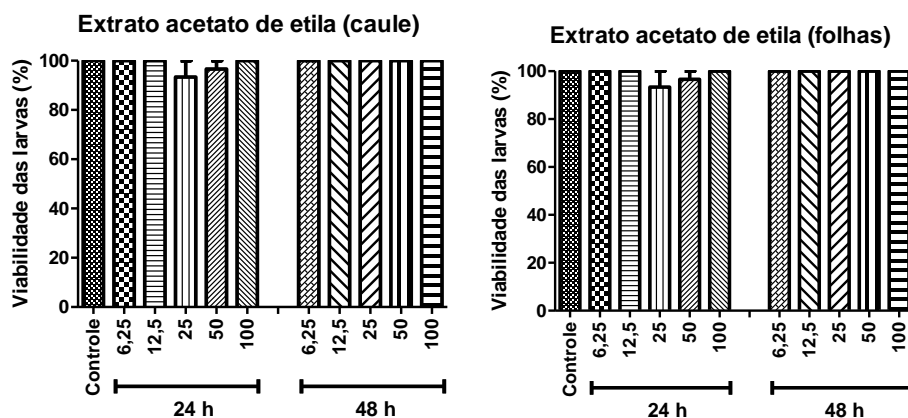


Figura 20. Análise dos resultados obtidos do índice de viabilidade (%) da larva do mosquito *A. aegypti* frente ao extrato acetato de etila de *P. acuminatus* em diferentes concentrações.

As 48 horas seguintes não influenciaram para a mortalidade de mais larvas imersas no extrato acetato de etila tanto do caule quanto da folha. Com esse resultado é possível inferir que não há uma relação direta entre os diferentes extratos utilizados, tampouco entre o próprio extrato variando a parte da planta utilizada como o extrato hexânico da folha e do caule que não tiveram nenhuma correlação quanto à concentração com maior potencial larvicida.

Como não foi feita uma dosagem em nível de substâncias químicas presentes na planta, inclusive de saponina, durante a distribuição das concentrações para a realização dos testes biológicos, é possível que a quantidade de substâncias ativas presentes nas concentrações testadas tenham sido distintas para caule e folha, o que explica a mortalidade de larvas em concentrações menores e não em maiores quando comparado entre o mesmo solvente utilizado.

Segundo Augustin e seus colaboradores (2011), o conteúdo de saponinas nas plantas pode variar com a parte vegetal examinada, e com fatores ambientais e agrônômicos, como disponibilidade de nutrientes e água, e necessidade de proteção contra herbívoros e patógenos. Shi e colaboradores (2007) exemplificaram isso ao investigar a presença de ginsenosídeos em raízes, folhas e caule de *Panax ginseng* C.A. Mey em idades diferentes, resultando uma maior produção destes nas raízes com um ano de crescimento.

Ao realizar estudo, Gobbo-Neto (2007) concluiu que o conteúdo final de metabólitos secundários em plantas medicinais pode ser afetado, assim como condições de coleta, estabilização e estocagem podem ter grande influência na qualidade e, conseqüentemente, no valor terapêutico de preparados fitoquímicos. Além disso, foi observado por Kao *et al.* (2001) que extratos vegetais podem ser analisados também em conjunto, visto que existe a possibilidade de uma ação sinérgica ou aditiva entre eles.

A diferença dos resultados entre testes do material vegetal fresco e seco demonstra que a metodologia utilizada para a preparação dos extratos etanólico bruto, hexânico, clorofórmico e acetato de etila pode ter provocado alteração da molécula de saponina por causa das temperaturas utilizadas durante o processo de evaporação rotativa, o que pode ter resultado em respostas diferentes quanto à sua interação com o sistema de membranas internas. A variação da concentração de saponina na sua forma molecular íntegra, comparando o extrato de folha e caule, pode ter ocorrido uma vez que o procedimento de aquecimento na estufa e no evaporador rotativo possivelmente promoveu hidrotermólise, com consequente degradação da molécula de saponina. Esse fenômeno pode ter interferido nas interações eletrostáticas e hidrofóbicas com a membrana. Segundo Ribeiro (2012), a estrutura complexa das saponinas pode sofrer transformações químicas durante a estocagem e o processamento, que podem modificar suas propriedades e levar a uma diminuição no seu percentual em até 60%.

## 5 CONCLUSÃO

Algumas populações de *A. aegypti* têm mostrado resistência a inseticidas utilizados nos programas de controle, por isso, há necessidade do desenvolvimento de novos produtos com essa atividade e que sejam menos danosos ao meio ambiente e à saúde humana.

Alguns moradores de Maragogipe, Bahia, cultivam em quintais e utilizam *P. acuminatus* na atividade pesqueira para facilitar a captura de alguns peixes. Outros usos foram associados a esta planta, dentre eles, como repelente ao ser passado na pele e até mesmo como fumo. A utilização dessas plantas constitui uma alternativa de baixo custo, além de se apresentar como um importante meio na conservação do conhecimento transmitido através das gerações.

*Phyllanthus acuminatus* mostra-se com certo potencial farmacológico graças à constituição dos seus metabólitos secundários, embora ainda necessite de novos estudos para o isolamento e a identificação dos compostos de interesse.

Os ensaios com larvas de *Aedes aegypti* a partir do material vegetal fresco revelaram que o extrato aquoso possui efeito larvicida no intervalo observado na concentração a 1,0mL e que essa ação pode estar associada à presença de saponinas como um dos metabólitos secundários do vegetal testado. As saponinas possivelmente afetaram o sistema de membranas internas e podem ter atuado sobre as brânquias desses insetos causando desequilíbrio osmótico levando à morte.

Com a partição dos extratos do material vegetal seco foi possível obter concentrações letais extremamente baixas em relação aos estudos com a planta fresca, o que sugere que o efeito bioinseticida pode estar associado à preparação artesanal. Neste sentido, trabalhos de resgate do conhecimento tradicional são de grande valia, uma vez que permitem o registro de informações não só acerca das relações que permeiam homens e plantas, mas de espécies promissoras para pesquisas farmacológicas posteriores.

É preciso que novos testes sejam realizados para que concentrações mais elevadas sejam examinadas com as larvas de 3º estágio. Os resultados apontam, ainda, para a necessidade do

prossegimento dos estudos com o vegetal, de maneira a contribuir com o conhecimento acadêmico e popular sobre sua ação larvicida.



## REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M.; RANJBAR, A.; SHADNIA, S.; NIKFAR, S.; REZAIE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, v. 10, p. 141–147. 2004.
- ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P. The occurrence of piscicides and stupefactants in the Plant Kingdom. In: by Prance, G. and M. Balick. New Directions in Study of Plants and People. *Advances in Economic Botany*. v. 8. 1990.
- ANDRADE, J. N.; COSTA-NETO, E. M. Primeiro registro da utilização medicinal de recursos pesqueiros na cidade de São Félix, Estado da Bahia, Brasil. *Acta Sci. Biol.* Maringá, v. 27, n. 2, p. 177-183, Abr/Jun. 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 16, n. 3, p. 273-285. 2002.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; SILVEIRA, E. R.; UCHOA, D. E. A.; LEMOS, T. L. G.; SOUZA, E. S.; SANTIAGO, G. M. P.; PESSOA, O. D. L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). *J Agric Food Chem*, v. 52, p. 6708-6711. 2004.
- ALVES, J. R. C.; ALENCAR, J.; COSTA, J. M. Ocorrência de larvas de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae), em recipiente artificial, na ilha de Marambaia, Mangaratiba, RJ, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, v. 37, n. 2, p. 177-180. 2008.
- AMOROZO, M. C. M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. *Plantas medicinais: arte e ciência*. São Paulo: UNESP, 1996, p. 57-63.
- AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, v. 16, n. 2, p. 189-203. 2002.
- APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 61, p. 105-121. 2009.
- ARAGÃO J. A.; VALLE J. R. Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjana*, *Derris* e *Tephrosia*. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 25, n. 7, p. 12-14. 1973.
- ARAÚJO, C. de B. F. Síntese de derivados solúveis de  $\beta$  escina e algumas avaliações físico-químicas e biológicas. 2008. *Dissertação* (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2008.

- AUGUSTIN, J. M.; KUZINA, V.; ANDERSEN, S. B.; BAK, S.; Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, v. 72, p. 435-457. 2011.
- AZEVEDO, F. R.; GUIMARÃES, J. A.; BRAGA SOBRINHO, R.; LIMA, M. A. A. Efficiency of natural products to control *Bemisia tabaci* biotype b (Hemiptera: Aleyrodidae) on melon plant. *Revista Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, n. 1, p. 73-79 (in Portuguese, with abstract in English). 2005.
- BAHIA. Governo do Estado. Secretaria de Cultura. IPAC. Carnaval de Maragogipe. / Instituto do Patrimônio Artístico e Cultural da Bahia. – Salvador: FPC. 62p. : il. – (Cadernos do IPAC, 2). ISBN: 978-85-61458-28-7. 2010.
- BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Natural products with antileprotic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 141-148, 2007.
- BARBOSA, P. R. M.; RODRIGUES, W. C.; CABRAL, M. M. O. Incidência das Formas Imaturas de *Aedes albopictus* (Skuse) e *Aedes aegypti* (Linnaeus) no Município de Miguel Pereira, RJ, Brasil. *EntomoBrasilis*, v. 3, n. 2, p. 55-58, maio – ago. 2010.
- BERNARDO, D. R. Estratégias de Processamento Verde de Saponinas da Biodiversidade Brasileira. 2012. *Tese* (Doutorado: Programa de Pós-Graduação de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos Escola de Química). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- BRAGA, I. A.; LIMA, J. P. B.; SOARES, S. S.; VALLE, D. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe and Alagoas, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 99, p. 199-203. 2004.
- BRASIL. Ministério dos Transportes. DNIT, Mapa Rodoviário da Bahia, 2002.
- BRASIL, Ministério da Saúde. *Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 8. Ed. Ver. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010.
- BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, v.33, p. 229-239. 2010.
- BÜTTOW, M. V. Etnobotânica e caracterização molecular de *Butia* sp. (2008). Pelotas - RS, p. 64, *Dissertação* (Mestrado – Programa de Pós - Graduação em Fitomelhoramento), Universidade Federal de Pelotas. 2008.
- CABIESES, F. Apuntes de Medicina Tradicional: La racionalización de lo irracional. Tomo II. Lima, Perú: A&B S. A., 1993.
- CÁRDENAS-LÓPEZ, D.; MARÍN CORBA, C. A.; SUÁREZ SUÁREZ, L. S., [et.al.]. Plantas útiles de Lagarto Cocha y Serranía de Churumbelo en el departamento de Putumayo. Bogotá, D.C., Colombia: *Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas, SINCHI*, 2002. 40 p.: il. (color).
- CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 17, p. 267-280. 2003.

- CERÓN, C. E.; MONTALVO, C. Etnobotânica de los Huaorani de Quehueiriono, Napo-Ecuador. *Ediciones Abya-Yala*, Quito. 231 pp. 1998.
- CHARIANDY, C. M.; SEAFORTH, C. E.; PHELPS, R. H.; POLLARD, G. V.; KAMBAY, B. P. S. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *J Ethnopharmacol*, v. 64, p. 265-270. 1999.
- CHEEKE, P. R.; OTERO, R. Yucca, Quillaja may have role in animal nutrition, *Feedstuffs*, v. 77, n.3, jan. 17, 2005.
- CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *II Simposio sobre ingredientes na alimentação animal*, CBNA-Uberlândia, MG, p. 217-229, 2002.
- CHUN, J.; GOODMAN, C. L.; RICE, W. C.; MCINTHOSI, A. H.; CHIPPENDALE, G. M.; SCHUBERT, K. R. *Pentaclethra maculosa* seed effect on larval growth cell viability and midgut enzyme activity of *Helicoverpa zea*. *J Econ Entomol*, v. 87, p. 1754-1760. 1994.
- CICCIA, G.; COUSSIO, J., MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *J Ethnopharmacol*, v. 72, p 185-189. 2000.
- COELHO, A. A. M.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S. Insecticidal activity of Cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carvavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Neotropical Entomology*, v. 35, p. 133-138, 2009.
- CORDEIRO, I. Euphorbiaceae. In: Stannard, B. L. Flora of the Pico das Almas Chapada Diamantina, Bahia – Brasil. *Royal Botanic Garden, Kew*. p. 300-317. 1995.
- CORRÊA, R. S. Toxicidade de extratos de *Lonchocarpus floribundus* Benth (Timbó) sobre *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Pulgão preto do Citrus (Sternorrhyncha: Aphilidae). 2006. 68 p. *Dissertação* (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa Agricultura no Trópico Úmido. Manaus, Amazonas. 2006.
- COSTA, J. P. C.; ALVES, S. M.; BELO, M. Differences among Timbo (*Derris* spp., Fabaceae) Species from Different Amazonian Regions in the control of *Musca domestica* L. *Acta Amazonica*, 29(4): 573-583 (in Portuguese). 1999.
- CROMBIE, L.; WHITING, A. D. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. *Phytochemistry*, Oxford, v. 49, n. 6, p. 1479-1507, jun. 1998.
- DEGALLIER, N.; FAVIER, C.; MENKES, C.; LENGAINNE, M.; RAMALHO, W. M.; SOUZA, R.; SERVAIN, J.; BOULANGER, J. P. Toward an early warning system for dengue prevention: modeling climate impact on dengue transmission. *Climatic Change*, v. 98, p. 581-592. 2010.
- DEWICK, P. M.; Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach, 3rd ed., *John Wiley & Sons*, Nova York. 2009.
- DINIZ, L. R. L. Efeito das saponinas triterpênicas isoladas de raízes da *Ampelozizyphus amazonicus* Ducke sobre a função renal. 2006. 116 f. *Dissertação* (Mestrado em Fisiologia e Farmacologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

- DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. *Rev. Bras. Epidemiol*, v. 5, p. 259-272, 2002.
- FONSECA, B.A.L.; FIGUEIREDO, L.T.M. Febre Amarela, p. 251-257. In: Veronesi, R. & R. Focaccia. *Tratado de infectologia*. 2º v. São Paulo: Atheneu, 2388p. 1999.
- FONTE, N. N. A complexidade das plantas medicinais: algumas questões de sua produção e comercialização. Curitiba, 2004. 183 f. *Tese* (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. 2004.
- FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. Dengue. Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. *Manual de Normas Técnicas*. Brasília. 2001.
- FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. *Boletim Epidemiológico* 23. 2002.
- FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, v. 88, n. 6, p. 587-605, 2002.
- GAZO, I. Parabéns com um pouco de história de Maragogipe. Disponível em: <http://www.enadiocareca.com.br/2013/05/parabens-com-um-pouco-da-historia-de.html>. Acesso em: 06 de maio de 2013.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30, p. 374-381, 2007.
- GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. *Lancet Infect. Dis.* v. 2, p. 33-42. 2001.
- GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, O.; MAZZA, G. Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47, n. 3, 2007.
- HIEN, P. P.; GORTNIZKA, H.; KRAEMER, R. Rotenone - potential and prospect for sustainable agriculture. *Omonrice*, v. 11, p. 83-92. 2003.
- IBGE. Mapa político do estado da Bahia. 2010. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/mapas/imagens/ba\\_mapa\\_gde.gif](http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/mapas/imagens/ba_mapa_gde.gif). Acesso em: abr. 2013.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, v. 51, p. 45-66. 2006.
- KALINOWSKA, M.; ZIMOWSKI, J.; PACZKOWSKI, C.; WOJCIECHOWSKI, Z. A. The formation of sugar chains in triterpenoid saponins and glycoalkaloids. *Phytochemistry Reviews*, v. 4, p. 237-257. 2005.
- KAO, S. T.; YEH, C. C.; HSIEH, C. C.; YAHG, M. D.; LEE, M. R.; LIU, H. S.; LIN, J. G. The Chinese medicine Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang inhibited proliferation of hepatoma cell lines by inducing apoptosis via G0/G1 arrest. *Life Sci*, v. 69, p. 1485-1496. 2001.
- KATHRIARACHCHI, H.; SAMUEL, R.; HOFFMANN, P.; MLINAREC, J.; WURDACK, K. J.; RALIMANANA, H.; STUESSY, T.; CHASE, M. W. Phylogenetics of tribe Phyllanthaeae (Phyllanthaceae; Euphorbiaceae sensu lato) base on nrITS and platid matK DNA sequence data. *American Journal of Botany*, v. 93, n. 4, p. 637-655. 2006.

KOLACZINSKI, J. H.; CURTIS, C. F. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroids insecticides: a review of the debate. *Food and Chemical Toxicology* v. 42, p. 697–706. 2004.

KOTZE, A. C.; DOBSON, R. J.; CHANDLER, D. Synergism of rotenone by piperonyl butoxide in *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in vitro: Potential for drug-synergism through inhibition of nematode oxidative detoxification pathways. *Veterinary Parasitology*, v. 136, p. 275-282. 2006.

LACERDA, V. D. Quintais do Sertão do Ribeirão: Agrobiodiversidade sob um enfoque etnobotânico. p. 55, *Monografia* (Graduação) - UFSC, Florianópolis. 2008.

LIGON, B. L. Dengue fever and dengue hemorrhagic fever: a review of the history transmission, treatment and prevention. *Semin Pediatr. Infect. Dis*, v. 16, p. 60-65. 2005.

LORENZI, H.; MATOS, J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Nova Odessa. SP: Instituto Plantarum. 2002.

LUNA, J. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides, Brazil. *Ver. Saúde Pública*, v. 38, p. 1-2. 2004.

MARINOS, C.; CASTRO, J.; NONGRADOS, D. Biocidal effect del barbasco *Lonchocarpus utilis* (Smith, 1930) as regulator of mosquitoes larvae. *Revista Peruana de Biología*, v. 11, n. 1, p. 87-94 (in Spanish, with abstract in English). 2004.

MARQUES, J. G. W. Aspectos ecológicos na ictiologia dos pescadores do Complexo Estuarino-Lagunar Mundaú-Manguaba. 1991. *Tese* (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

MARTIN, G. J. *Ethnobotany - A methods manual*. London, Ed. Chapman & Hall. 1995.

MASCARO, U. C. P.; RODRIGUES, L. A.; BASTOS, J. K.; SANTOS, E.; COSTA, J. P. C. LD50 in fish and rat produced by powdered roots of *Derris* spp and ecotoxicological implications. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 18(2): 53-56 (in Portuguese, with abstract in English). 1998.

MOHAN, S.; FIELDS, P. G. A simples technique to assess compounds that are repellent or attractive to storedproducts insects. *J Stored Prod Res*, v. 38, p. 23-31. 2002.

MOREIRA, E. Conhecimento Tradicional e a Proteção. *T&C Amazônia*, Ano V, n. 11, Jun. 2007.

MOURA, F. B. P.; MARQUES, J. G. W. Conhecimento de pescadores tradicionais sobre a dinâmica espaço-temporal de recursos naturais na Chapada Diamantina, Bahia. *Biota Neotropica*, v. 7, n. 3. 2007.

MOTA, S. G. R. Ensaio *in vitro* e análise quimiométrica de inibidores da enzima lanosterol 14-desmetilase de *Moniliophthora perniciosa*. 2009. 79 f. *Dissertação* (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

- MUÑOZ, V.; SAUVAIN, M.; BOURDY, G.; CALLAPA, J.; ROJAS, I.; VARGAS, L.; TAE, A.; DEHARO, E. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by *Mosetene indians*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 69, n. 2, p. 139-155. 2000.
- NAKATA, H.; HIRAKAWA, Y.; KAWAZO, M.; NAKABO, T.; ARIZONO, K.; ABE, S. I.; KITANO, T.; SHIMADA, H.; WATANABE, I.; LI, W.; DING, X. Concentrations and compositions of organochlorine contaminants in sediments, soils, crustaceans, fishes and birds collected from Lake Tai, Hangzhou Bay and Shanghai city region, China. *Environmental Pollution*, v. 133, p. 415-429. 2005.
- NAPOLITANO, D. R.; MINEO, J. R.; DE SOUZA, M. A.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S.; ESPINDOLA, F. S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 99, p. 37-41. 2005.
- OLIVEIRA-FILHO, A. M. A. Resistência dos Insetos aos Inseticidas, a Situação Atual do *Aedes aegypti* e a Explosão de Dengue no Rio de Janeiro em 2002. *Vetores e Pragas*, v. 11, p. 9-13, 2002.
- OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G., MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamines derivatived of lapachol and biological activity. *An Acad Bras Cienc*, v. 74, p. 211-321. 2002.
- OLIVEIRA, A. F. G. Testes Estatísticos Para Comparação De Médias. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.5, n. 6, p. 777-788. nov/dez. 2008.
- OYEWOLE, I. O.; MORONKOLA, D. O.; OGUNWANDE, I. A.; OKOH, H.; IBIDAPO, C. A.; DENLOYE, A. B.; OGUNNOWO, A. A.; ADEDAYO, M. Larvicidal activity of the essential oil from *Phyllanthus amarus* Sch. et Thonn (Euphorbiaceae) against three species of mosquitoes. *Der Pharmacia Lettre*, v. 2, n. 6, p.136-141. 2010.
- PANIZZA, S. *Plantas que Curam - Cheiro de Mato*. IBRASA. 1997.
- PELAH, D.; ABRAMOVICH, Z.; WIESMAN, M. K. The use of commercial saponin from *Quillaga saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *J Ethnopharmacol*, v. 81, p. 407-409. 2002.
- PENTEADO, S. R. *Defensivos alternativos e naturais*. São Paulo: Grafimagem. 2ª ed. 90 p. 2000.
- PEREIRA, J. R.; FAMADAS, K. M. Evaluation "in vitro" of the efficiency of timbo root extract (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in the Paraíba Valley region - São Paulo, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v. 71, n. 4, p. 443-450 (in Portuguese, with abstract in English). 2004.
- PIMENTA, A. T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; ARRIAGA, A. M. C.; MENEZES, G. H. A.; BEZERRA, S. B. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade larvicida de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 16, n. 4, p. 501-505. 2006.
- PINTON, F.; AUBERTIN, C. "Populations Traditionnelles: enquête de frontières", In L'Amazonie brésilienne et le développement durable. Expériences et enjeux en milieu rural, Albaladejo, C. et Arnauld de Sartre, X (Dir.), Paris, *L'Harmattan*, p. 159-178. 2005.

PIRES J. M. Plantas ictiotóxicas, aspectos da Botânica Sistemática. Sessão Integrada (timbós). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 26, n. 7, p. 56-61. 1973.

RAIZADA, R. B.; SRIVASTAVA, M. K.; KAUSHAL, R. A.; SINGH, R. P. Azadirachtin, a neem biopesticide: subchronic toxicity assessment in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 39, p. 477–483. 2001.

RIBEIRO, B. D. Estratégias de Processamento Verde de Saponinas da Biodiversidade Brasileira. 2012. Rio de Janeiro. 187 f. *Tese* (Doutorado – Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2012.

RODRIGUES, A. M. S.; DE PAULA, J. E.; DEGALLIER, N.; MOLEZ, J. F. ESPÍNDOLA, L. S. Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 22, p. 314-317. 2006.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciência agrotécnica*, Lavras, v. 25, n. 1, p. 102-123. 2001.

SALVIANO, P. A.; FIOCCHI, C. C. Associação medicamentosa flebotrópica no tratamento sintomático de varizes e hemorróidas - atualização bibliográfica. *Revista Brasileira de Medicina*. 2013. Disponível em: [http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id\\_materia=1421](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=1421)>. Acesso em: 17 de jan. de 2013.

SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; FARIA, A. R. Substâncias da natureza com atividade anti *Trypanosoma cruzi*, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 455-465, 2007.

SAMUEL, R.; KATHRIARACHCHI, H.; HOFFMANN, P.; BARFUSS, M. H. J.; WURDACK, K. J.; DAVIS, C.C.; CHASE, M. W. Molecular phylogenetics of Phyllanthaceae: evidence from plastid *MATK* and nuclear *PHYC* sequences. *American Journal of Botany*, v. 92, p. 132-141. 2005.

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

SANTILLI, J. *A biodiversidade das comunidades tradicionais*. In: BESUNSAN, Nurit (org.) *Seria Melhor Ladrilhar? Biodiversidade como, para que, por quê*. Brasília: Editora Universidade de Brasília: Instituto Socioambiental, 2002.

SECCO, R. S.; CORDEIRO, I.; SENNA-VALE, L.; SALES, M. F. de; LIMA, L. R. de; MEDEIROS, D.; HAIAD, B. de S.; OLIVEIRA, A. S. de; CARUZO, M. B. R.; CARNEIRO-TORRES, D.; BIGIO, N. C. An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s.l. in Brazil Panorama dos recentes estudos taxonômicos em Euphorbiaceae s.l. no Brasil. *Rodriguésia*, v. 63, n. 1, p. 227-242. 2012.

SHAFER, T. J.; MEYER, D. A.; CROFTON, K. M. Developmental neurotoxicity of pyrethroids insecticides: critical review and future research needs. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, p. 123–136. 2005.

SHI, W.; WANG, Y.; LI, J.; ZHANG, H.; DING, L.; Investigation of ginsenosides in different parts and ages of *Panax ginseng*. *Food Chemistry*, v. 102, p. 664-668. 2007.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo evolutivo de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, p. 349-355. 1999b.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G., OLIVEIRA, C. L. N. S.; ELIAS, C. N. Adaptação do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em criadouros artificiais com água poluída. *Entomologia y Vectores*, v. 6, p. 383-391. 1999a.

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

SILVA, I. G.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; SILVA, H. H. G.; ELIAS, C. N.; MADY, C. M.; SILVA, V. V. M.; NERY, A. P.; ROCHA, K. R.; ROCHA, C.; ISAC, E. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), em criadouros artificiais. *Rev Patol Trop*, v. 32, p. 73-86. 2003.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma caatinga do estado de Pernambuco. *Rodriguésia* v. 55, n. 84, p. 105-130. 2004.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) em Pernambuco, Brasil. *Acta Bot. Bras.* v. 2, n. 1, São Paulo Jan./Mar. 2007.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. Sinopse do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) no Nordeste do Brasil. *Rodriguésia*, v. 59, n. 2, p. 407-422. 2008.

SILVA, W. A.; FAGUNDES, N. C. A.; COUTINHO, C. A.; SOARES, A. C. M.; CAMPOS, P. V.; FIGUEIREDO, L. S. de. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de São João da Ponte-MG. *Biofar – Revista de biologia e farmácia*. v. 07, n. 01. 2012.

SIMÕES, C. M. O.; PETROVICK, V. P.R. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 2ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2003.

SOARES, V. A. R. C., RODRIGUES, W. C., CABRAL, M. M. O. Estudo de áreas e depósitos preferenciais de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) no Município de Paracambi - Rio de Janeiro, Brasil. *Entomobrasilis*, v. 1, n. 3, p. 63-68. 2008.

SPARGH, S. G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, p.219- 243. 2004.

TEIXEIRA, D. F. Estudo químico e avaliação biológica de *Attalea excelsa* mart. Ex spreng.(urucuri) e *Pterodon emarginatus* vog. (sucupira branca) em *Aedes aegypti*. 2003. *Dissertação* (Mestrado) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2003.

TORRES, D. S. C.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Acta Bot. Bras*, v.17, n. 2. São Paulo Abr./Jun. 2003.



- TREVISAN, R. R. Estudo Fitoquímico e Avaliação das Atividades Biológicas das cascas de *Celtis iguanaea* ( Jacq.) Sargent Ulmaceae. 2010. *Dissertação* (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde , Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- VARNA, A.; ABBOT, L.; WERNER, D.; HAMPP, R.. Plant surface microbiology. New York: *SpringerVerlag*. ISBN 978-3-540-74050-6. 2008.
- VINCKEN, J. P.; HENG, L.; DE GROOT, A.; GRUPPEN, H.; Saponins, classification and occurrence in plant kingdom. *Phytochemistry*, v. 68, p. 275-297. 2007.
- WANDSCHEER, C. B.; DUQUE, J. E.; SILVA, M. A. N. da; FUKUYAMA, Y.; WOHLKE, J. L.; ADELMANN, J.; FONTANA, J. D. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azeradach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, v. 44, p. 829-835. 2004.
- WANG, Y.; MCALLISTER, T.A.; YANKE, L. J.; CHEEKE, P. R. Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, n. 5, p. 887–896. 2000.
- WANG, Y.; ZHANG, Y.; ZHU, Z.; ZHU, S.; LI, Y.; LI, M.; YU, B.; Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 15, p. 2528-2532. 2007.
- WEBSTER, G.L. A synopsis of the Brazilian taxa of *Phyllanthus* section *Phyllanthus* (Euphorbiaceae). *Lundelia*, v. 5, p. 1-26. 2002.
- WURDACK, K. J.; HOFFMANN, P.; CHASE, M. W. Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae s.s.) using plastid rbcL and trnL-F DNA sequences. *American Journal of Botany*, v. 92, p. 1397-1420. 2005.
- YANG, Y. C.; LEE, S. G.; LEE, H. K.; KIM, M. K.; LEE, S. H.; LEE, H. S. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *J Agric Food Chem*, v. 50, p. 3765-3767. 2002.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A - Modelo de entrevista semiestruturada.

Entrevista n°: \_\_\_\_\_

### A. Informação sobre o entrevistado:

1. Nome (opcional): \_\_\_\_\_ 2. Idade: \_\_\_\_\_

3. Endereço (opcional): \_\_\_\_\_

4. Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino

5. Escolaridade: Nenhuma ( ) ( ) Outro: \_\_\_\_\_

1º grau ( ) completo ( ) incompleto

2º grau ( ) completo ( ) incompleto

3º grau ( ) completo ( ) incompleto

6. Profissão/Atividade: \_\_\_\_\_

### B. Informações sobre a entrevista:

1. Local: \_\_\_\_\_ 2. Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

3. Circunstâncias: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### C. Informações sobre plantas ictiotóxicas:

1. Quais plantas você usa para pescar?

2. Qual é o nome dessa plantas?

3. Onde podem ser encontradas?

4. Por que você prefere utilizar essas plantas na pesca?

5. Ela ajuda de que forma na pescaria?

6. Como é preparada e como se usa?

7. Alguém da comunidade já se intoxicou em contato com essas plantas?

9. O que acontece com os peixes quando entram em contato com essas plantas?

10. Sabe dizer se o peixe que teve contato com a planta passa a ser tóxico para nós humanos?

11. Quais os peixes daqui da região são pescados com essas plantas?

12. Sabe dizer o que a planta causa no peixe para ele morrer ou ficar “tonto”?

## Apêndice B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O projeto Avaliação do Extrato de Plantas Utilizadas Tradicionalmente como Ictiotóxicas na Mortalidade de Larvas do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) visa avaliar o uso do extrato de algumas plantas utilizadas tradicionalmente como ictiotóxicas na mortalidade de larvas do mosquito da dengue. Esse estudo reflete o interesse e a importância em diminuir o uso de inseticidas sintéticos usados no controle do *Aedes*, visto a séria ameaça ao meio ambiente e ao risco que oferece à saúde da população.

O professor Eraldo Medeiros Costa Neto, que trabalha na Universidade Estadual de Feira de Santana e a bióloga Juliana Nascimento Andrade, estudante do Curso de Mestrado em Biotecnologia, se propõem a estudar o efeito de algumas espécies vegetais, partindo de estudos etnobiológicos, como alternativa para a redução do uso de produtos com alto poder de poluição ambiental no controle da dengue, como é o caso da escolha por bioinseticidas. Este estudo quer saber quais são as espécies ictiotóxicas que os pescadores ou representantes da comunidade conhecem e como se dá o uso na pesca tradicional. Além disso, o projeto quer saber se estes vegetais têm algum efeito na mortalidade de larvas de *A. aegypti*. A pesquisa não apresenta riscos nem para os sujeitos participantes e nem para a instituição de ensino. Os sujeitos da pesquisa serão informados sobre os resultados alcançados ao fim do projeto e a contribuição deles para a bioprospecção no que se refere ao controle do mosquito. Para conhecer isso tudo, o professor Eraldo e a bióloga Juliana precisam não só conversar com o (a) senhor (a), mas também acompanhar e tirar umas fotos do (a) senhor (a) usando essas plantas na pesca. As fotos somente serão tiradas se o (a) senhor (a) permitir, lembrando que faremos uma cópia e daremos para ao senhor (a). As nossas conversas serão gravadas em um micro-gravador, também com sua permissão, apenas para registrar o que foi conversado. As plantas coletadas serão identificadas no Herbário, Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, onde as exsicatas serão depositadas. As fitas gravadas e as informações de campo serão depositadas no Laboratório de Etnobiologia da UEFS, as quais ficarão sob a responsabilidade do Pesquisador Responsável. Vale lembrar que o senhor (a) não é obrigado a participar deste estudo e tem todo direito de não responder às perguntas que forem feitas, além de desistir em qualquer momento da pesquisa. O estudo garante confidencialidade, privacidade e anonimato a todos que participarem. Os informantes não terão despesas nenhuma ao participar da pesquisa.

Se o (a) senhor (a) estiver de acordo com o que foi explicado e aceita participar do estudo, por favor assine este documento em duas vias. Uma cópia ficará guardada com o (a) senhor (a).

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2011.

Entrevistado

Pesquisador

Professor Eraldo Medeiros Costa-Neto

Universidade Estadual de Feira de Santana

Departamento de Ciências Biológicas

Laboratório de Etnobiologia: 75-3224-8131

Bióloga Juliana Nascimento Andrade

Mestranda em Biotecnologia - UEFS