

André Afonso Machado Coêlho

**Análise inseticida de extratos de plantas do bioma Cerrado
sobre triatomíneos e larvas de *Aedes aegypti***

Brasília – 2006

André Afonso Machado Coêlho

**Análise inseticida de extratos de plantas do bioma Cerrado
sobre triatomíneos e larvas de *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola

Brasília – 2006

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Neuza e Manuel, irmãos, Pedro e Juliana, e meu sobrinho, Diego, por me fazerem feliz e realizado desde sempre, além do apoio de todos, sem exceção, em qualquer momento da minha vida.

A Diana Gonçalves Simões por sempre estar por perto quando necessitei, por todo amor e carinho e por ter me incentivado a ingressar e finalizar o mestrado. Também agradeço por ter revisado todos os trabalhos que escrevi, sempre com ótimas críticas e sugestões, colaborando imensamente para a conclusão dos mesmos.

Aos grandes amigos Daniel Diniz (Ajax), Guilherme Labarrere, Marcos Lima e Tiago Barros, pela grande amizade e por todo apoio que também sempre deram nos momentos mais difíceis. Obrigado também por todas as críticas, sugestões, perguntas e colaborações ao trabalho.

À Prof^a Laila Salmen Espíndola por ter aceitado me orientar.

Aos professores Jaime Martins Santana, José Roberto Pujol-Luz e Silene de Paulino Lozzi por aceitarem participar da banca examinadora.

À Prof^a Ivone R. Diniz pelas excelentes aulas e por tudo o que me ensinou sobre entomologia.

A todos do Laboratório de Farmacognosia, Ellen, Nashira, Alice, Jair, Lorena, Raquel, Isabella, Clarice, Mariana, Thiago, Karla, Daniella... Pois todos colaboraram, de alguma forma, para o andamento deste trabalho.

Ao Prof. José Elias de Paula por coletar e identificar todas as plantas utilizadas para a preparação dos extratos.

À Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal por ceder as larvas de *Aedes aegypti* e pela grande cooperação durante os experimentos.

Aos professores Antônio Teixeira e Cleudson de Castro pelos triatomíneos cedidos.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
OBJETIVOS	11
CAPÍTULO I. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS DE PLANTAS DO CERRADO EM NINFAS DE <i>RHODNIUS MILESI</i> CARCAVALLO <i>ET AL.</i>, 2001 E <i>DIPETALOGASTER MAXIMA</i> (UHLER, 1894) (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) EM LABORATÓRIO	12
RESUMO	13
INTRODUÇÃO.....	14
<i>Trypanosoma cruzi</i>	17
<i>Aspectos biológicos dos triatomíneos</i>	19
<i>Estratégias de controle</i>	23
<i>Controle de triatomíneos</i>	23
<i>Atividade inseticida de produtos naturais em triatomíneos</i>	28
MATERIAL E MÉTODOS	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
CAPÍTULO II. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE <i>Aedes Aegypti</i> (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE) EM LABORATÓRIO	67
RESUMO	68
INTRODUÇÃO.....	69
<i>Prevenção e tratamento</i>	73
<i>Biologia do Aedes aegypti</i>	74
<i>Controle químico e resistência</i>	75
<i>Inseticidas de origem vegetal</i>	78
<i>Cerrado</i>	80
MATERIAL E MÉTODOS	81
RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
CONCLUSÃO	96
ANEXO	98

INTRODUÇÃO

A dengue é considerada atualmente a arbovirose mais importante no mundo, com uma estimativa de 50 milhões de infecções por ano. Vários fatores são responsáveis pelo ressurgimento dessa doença nos diversos países: crescimento sem precedentes da população humana, urbanização não controlada, abastecimento de água e tratamento de resíduos inadequados, aumento da densidade e distribuição dos mosquitos vetores e também da disseminação dos vírus da dengue, ausência de um controle efetivo do mosquito, deterioração da infra-estrutura de saúde pública (Torres, 2005). Por outro lado, existem cerca de 16-18 milhões de pessoas infectadas com o *Trypanosoma cruzi* na América Latina, além de 120 milhões de pessoas em risco de contaminação, principalmente nas áreas rurais pobres (WHO, 2002).

Como não existem vacinas validadas para o uso contra essas enfermidades, nem medicamentos para a fase crônica, no caso da doença de Chagas, o principal método de controle ainda é a prevenção. Esta é feita principalmente por meio do controle vetorial, com aplicações de inseticidas e eliminação de ambientes propícios para o desenvolvimento dos insetos, seja eliminando criadouros de mosquitos ou melhorando as condições habitacionais das populações rurais, diminuindo, assim, os abrigos para triatomíneos (WHO, 2002; Deen, 2004; Ligon, 2005).

Todavia, o desenvolvimento de resistência aos pesticidas comumente utilizados tem dificultado esse trabalho. Verificou-se a existência de diversas populações de triatomíneos ou de *Aedes aegypti* resistentes a piretróides, organoclorados ou organofosfatos (Zerba,

1999; Vassena *et al.*, 2000; Picollo, 2001; Lima *et al.*, 2003; Macoris *et al.*, 2003; Vassena & Picollo, 2003; Braga, *et al.*, 2004; Luna *et al.*, 2004), existindo, por isso, a necessidade do desenvolvimento de novos compostos com essa atividade.

As plantas são grandes fontes de moléculas com ação fago-inibidora, repelente, inseticida, além de substâncias capazes de alterar a regulação do crescimento, tendo como exemplos os piretróides, a rotenona, a nicotina, a quassina e a azadiractina, extraídos das flores do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), das raízes do timbó (*Derris* spp.), das folhas do fumo (*Nicotiana* spp.), do caule da quina (*Quassia amara*) e do fruto do nim (*Azadiracta indica*), respectivamente (Viera & Fernandes, 1999).

Logo, com o objetivo de verificar a ação inseticida de plantas nativas do Cerrado contra os vetores *Rhodnius milesi*, *Dipetalogaster maxima* e *Aedes aegypti*, foram testados diversos extratos brutos de folha, caule, raiz, fruto e flor em ninfas de quarto estágio de *R. milesi* (ver Schmeda-Hirschmann & Rojas de Arias, 1992), primeiro estágio de *D. maxima* (ver Leite *et al.*, 1987) e em larvas do 3º estágio de *A. aegypti* (ver Rodrigues, 2004). Como a principal forma de controle dessas duas doenças é o controle vetorial, busca-se, neste estudo, uma investigação da ação inseticida sobre imaturos desses vetores, visto que impedindo o desenvolvimento dos adultos, impede-se conseqüentemente a reprodução dos mesmos, diminuindo, assim, a densidade populacional e, portanto, reduzindo a prevalência da doença.

Observou-se, no primeiro capítulo, que 14 extratos provenientes de quatro espécies diferentes (*Guarea guidonia*, *G. kunthiana*, *Simarouba versicolor* e *Talauma ovata*) aumentaram a taxa de mortalidade (20%-95%) de ninfas do quarto ínstar de *R. milesi* de forma significativa, após 28 dias de teste. Entretanto, nenhum extrato matou as ninfas do

primeiro ínstar de *D. maxima* significativamente, apesar do extrato hexânico do fruto e etanólico da casca do caule terem inibido significativamente a taxa de ecdise nesta espécie.

Já no capítulo II, verificou-se a atividade de 68 extratos. Destes, nove extratos provenientes de seis espécies diferentes (*Duguetia furfuracea*, *Kielmeyera coriacea*, *Matayba guianensis*, *Schinus terebinthifolius*, *Talauma ovata* e *Xylopia emarginata*) apresentaram ação inseticida interessante em larvas do terceiro ínstar de *A. aegypti*. Os dois mais ativos, o extrato hexânico da madeira da raiz de *D. furfuracea* e o diclorometânico da folha de *K. coriacea* mataram mais de 90% das larvas utilizadas, após 24h da aplicação em uma concentração de 500 µg/mL. Adicionalmente, esses mesmos extratos foram testados em concentrações menores (250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62 µg/mL) para a determinação da CL₅₀, obtendo-se para *D. furfuracea* uma CL₅₀ igual a 65,24 µg/mL e para *K. coriacea* uma CL₅₀ correspondente a 112,79 µg/mL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, I. A.; LIMA, J. B. P.; SOARES, S. S.; VALLE, D. *Aedes aegypti* resistance to temphos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 199-203, 2004.

DEEN, J. L. The challenge of dengue vaccine development and introduction. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, p. 1-3, 2004.

LEITE, F. E. M.; ZAPATA, M. T. G.; SOARES, V. A.; MARSDEN, P. D. Avaliação laboratorial de inseticidas de origem vegetal utilizando *Dipetalogaster maxima* como agente de teste. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Suppl. I, v. 82, p. 201, 1987.

LIGON, B. L. Dengue fever and dengue hemorrhagic fever: a review of the history, transmission, treatment and prevention. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 16, p. 60-65, 2005.

LIMA, J. B. P.; CUNHA, M. P.; SILVA JÚNIOR, R. C.; GALARDO, A. K. R.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several Municipalities in the state of rio de janeiro and Espírito santo, brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, p. 329-333, 2003.

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

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V. C.; BRACCO, J. E. Resistance of *Aedes aegypti* from the State of São Paulo, Brazil, to Organophosphates Insecticides. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 703-708, 2003.

PICOLLO, M. N. Avances em el monitoreo de resistêcia em Triatominos y necesidades futuras. In: RELCOT. **Monitoreo de la resistêcia a insecticidas em Triatominos em América Latina**. 1º ed. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano, 2001. p. 13-21.

RODRIGUES, A. M. S. **Atividade de extratos vegetais do Cerrado sobre larvas de *Aedes aegypti* com ênfase em *Cybistax antisyphilitica***. 2004. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ROJAS DE ARIAS, A. A screening method for natural products on triatomine bugs. **Phytotherapy Research**, v. 6, p. 68-73, 1992.

TORRES, E. M. **Dengue**. 1º ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2005. 344 p.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. **Revista de Toxicología en Línea**, v. 3, p. 1-21, 2003.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I.; ZERBA, E. N. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 14, p. 51-55, 2000.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 1º ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 1999. p. 739-754.

WHO-World Health Organization. **TDR Strategic direction: Chagas disease**, Geneva, 2002.

ZERBA, E. N. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. **Medicina**, v. 59, p. 41-46, 1999.

OBJETIVOS

O grupo do laboratório de Farmacognosia trabalha avaliando a atividade de extratos e substâncias provenientes de plantas do Cerrado sobre imaturos de *Aedes aegypti*, *Rhodnius milesi* e *Dipetalogaster maxima*, além de parasitos como *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Plasmodium falciparum*. Também estuda os efeitos sobre células cancerosas, bem como em bactérias e fungos. A análise das atividades desses extratos brutos, suas frações e substâncias isoladas têm por finalidade a busca por novas moléculas medicamentosas. O "Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado" pode ser disponibilizado, após acordos de cooperação, aos diferentes grupos de pesquisa para testes em modelos biológicos variados.

Seguindo a linha de pesquisa relacionada à atividade inseticida, objetivou-se no capítulo I verificar a atividade de diversos extratos do "Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado" sobre ninfas do quarto ínstar de *Rhodnius milesi* ou do primeiro ínstar de *Dipetalogaster maxima*, avaliando sua mortalidade durante 28 dias.

No capítulo II avaliou-se também a ação inseticida de extratos provenientes do "Banco de Extratos", porém agora sobre larvas do terceiro ínstar de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), determinando a CL₅₀ dos extratos mais ativos.

Capítulo I

Avaliação da atividade inseticida de extratos de plantas do Cerrado em ninfas de *Rhodnius milesi* Carcavallo *et al.*, 2001 e *Dipetalogaster maxima* (Uhler, 1894) (Hemiptera: Reduviidae) em laboratório

RESUMO

A transmissão da doença de Chagas para o homem ocorre, principalmente, por meio de fezes de hemípteros hematófagos (Triatominae), os quais ingerem o *Trypanosoma cruzi* ao se alimentarem do sangue de pessoas ou animais infectados. Para o controle dos triatomíneos, os piretróides são os principais inseticidas utilizados. Entretanto, algumas populações de insetos demonstraram resistência a determinados piretróides, indicando a necessidade do desenvolvimento de novos inseticidas eficazes no controle desses vetores. Assim, foi avaliada a atividade inseticida de extratos vegetais em ninfas do quarto estágio de *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg, 2001 (Hemiptera: Reduviidae) ou em ninfas do primeiro estágio de *Dipetalogaster maxima* (Uhler, 1894), em condições de laboratório. Para o teste tópico, foram aplicados 50 µg de cada extrato nos tergitos abdominais de dez ninfas, em duplicata. Como controles, foram utilizados insetos tratados com etanol, acetona ou sem nenhum tipo de tratamento. Os triatomíneos foram observados durante 28 dias. Extratos hexânicos e etanólicos de *Simarouba versicolor*, *Guarea kunthiana*, *Guarea guidonia* e *Talauma ovata* causaram uma taxa de mortalidade entre 20% e 95% em *R. milesi* em comparação com os controles, onde não houve mortalidade dos insetos. Nenhum extrato foi ativo em *D. maxima*. Sugere-se que o extrato etanólico da casca da raiz de *S. versicolor* e o extrato hexânico da raiz de *G. guidonia*, os quais foram responsáveis pela mortalidade de 95% e 75%, respectivamente, devem ser quimicamente investigados e monitorados pelos ensaios biológicos a fim de determinar seus componentes inseticidas a serem utilizados como modelos moleculares ou como compostos biorracionais nos programas de controle de insetos.

Palavras-chave: Triatominae, extrato vegetal, controle de insetos, *Simarouba versicolor*, *Guarea guidonia*.

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, pertencente ao filo Kinetoplastidae (Zacks *et al.*, 2005).

A doença normalmente evolui em duas fases distintas: uma aguda, inicial e de pequena duração, e outra crônica, tardia e de longa duração. A fase aguda é geralmente acompanhada de febre, com duração média de quatro a oito semanas. Mesmo podendo apresentar alterações importantes no coração, fígado, baço e sistema nervoso, essa fase pode passar praticamente despercebida, sendo mais grave em crianças de baixa idade e em pessoas imunodeprimidas (Ministério da Saúde, 1994). A mortalidade de pessoas na fase aguda é de aproximadamente 10% devido, principalmente, a miocardites ou meningoencefalites (Coura, 2003; Aufderheide *et al.*, 2004).

Já na infecção crônica, quando o parasito está presente, mas em condições mínimas de agravo, a pessoa se encontra em um período assintomático, podendo permanecer assim durante muitos anos. Entretanto, 20 a 30% dos chagásicos irão desenvolver alterações cardíacas e 10 a 15%, alterações do esôfago e/ou do intestino grosso, podendo haver, inclusive, indivíduos que desenvolvam a forma mista, cárdio-digestiva (Ministério da Saúde, 1994). Embora Nifurtimox[®] e Benzonidazol[®] produzam uma resposta variável no estágio agudo, nenhuma terapia efetiva para o controle da fase crônica está disponível. (Aufderheide *et al.*, 2004).

A transmissão para o hospedeiro humano ocorre por meio das fezes de insetos hematófagos infectados, da subfamília Triatominae, os quais ingerem o *T. cruzi* ao se

alimentarem de pessoas ou animais infectados. São conhecidos popularmente de várias formas, incluindo “barbeiros”, “vinchucas”, “pitos”, “chinchês”, variando de uma região para outra (Rozendaal, 1997). Além da transmissão por insetos vetores existem também outros tipos de transmissão: transplacentária (congênita), oral, por transfusão sanguínea ou transplante de órgãos (Miles *et al.*, 2003) e, raramente, por leite materno ou por ato sexual (Rey, 1991).

Apesar dos triatomíneos serem os principais transmissores da doença de Chagas, outros artrópodes podem atuar em certas circunstâncias como vetores atípicos dessa doença. Os percevejos de cama *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758 e *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) (Hemiptera, Cimicidae) possivelmente não suportam o ciclo completo do parasito. Porém, depois de alimentação experimental em animais infectados, as fezes desses insetos contaminadas com tripomastigotas metacíclicos transmitiram o *T. cruzi* para ratos em laboratório. Além disso, já foi registrado caso de transmissão de *T. cruzi* para cachorros por meio de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari, Ixodidae) naturalmente infectados (Brener, 1973).

Ainda, segundo Jorg (1992) todos os exemplares (n=125) do percevejo de cama *C. lectularius* expostos ao rato silvestre *Akodon azarae azarae* (Fischer, 1829) (Rodentia, Muridae) contaminado com *T. cruzi* se tornaram infectados após alimentação. Posteriormente, foi verificada a infecção experimental de 96,6% de camundongos brancos mediante a picada de *C. lectularius* infectado.

T. cruzi é amplamente difundido nas Américas, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina, aproximadamente entre 42°N e 46°S (Schofield, 2000). Existem aproximadamente 16-18 milhões de pessoas infectadas, desde do México até a Argentina

(Figura 1), sendo que aproximadamente 120 milhões de pessoas estão em risco de contaminação (WHO, 2002). As migrações populacionais de países endêmicos para países desenvolvidos têm expandido as tradicionais fronteiras geográficas da doença, sendo especialmente relevantes para a transmissão por meio de transfusão sanguínea (WHO, 2002).



Figura 1. Mapa da distribuição geográfica da doença de Chagas.

De acordo com o Banco Mundial, o peso relativo da tripanossomíase americana, quando comparada a outras doenças endêmicas transmissíveis da América Latina e Caribe, e medido pelos “Anos de Vida Ajustados à Incapacidade” (AVAI), corresponde a mais que o dobro da soma de malária, esquistossomose, leishmaniose e hanseníase (Silveira, 1999).

Trypanosoma cruzi

De acordo com Aufderheide *et al.* (2004) o *T. cruzi* parasita o homem há pelo menos 9000 anos. Os autores analisaram tecidos de múmias humanas do Chile e do Peru datados de 9 mil a 450 anos atrás. Durante esse período, onze grupos culturais foram identificados até, aproximadamente, a data da invasão espanhola. A pesquisa revelou uma taxa de prevalência para a doença de Chagas em toda a população da região de 40,6%, sem diferenças significativas entre as diversas culturas. O grupo mais antigo foi o Chinchorro (7050 aC – 3000 aC) com uma prevalência de 39%. De acordo com os autores, esses resultados sugerem a presença de uma doença infecciosa muito comum, com um grande e acessível reservatório de hospedeiros, e com poucas alterações nos mecanismos de transmissão, resultando em um padrão estático da doença durante um período de 9 mil anos.

O ciclo de vida do parasito (Figura 2) é complexo, envolvendo vários estágios distintos de desenvolvimento nos hospedeiros vertebrados e invertebrados. No sangue periférico dos hospedeiros mamíferos, a forma tripomastigota do *T. cruzi* ocorre em duas formas básicas, uma fina e outra mais larga. Assim, o parasito é transferido até o intestino médio do inseto, onde as formas tripomastigotas se diferenciam em formas amastigotas. Os amastigotas ainda no intestino médio do triatomíneo transformam-se em epimastigotas, os quais são replicativos (Rey, 1991).

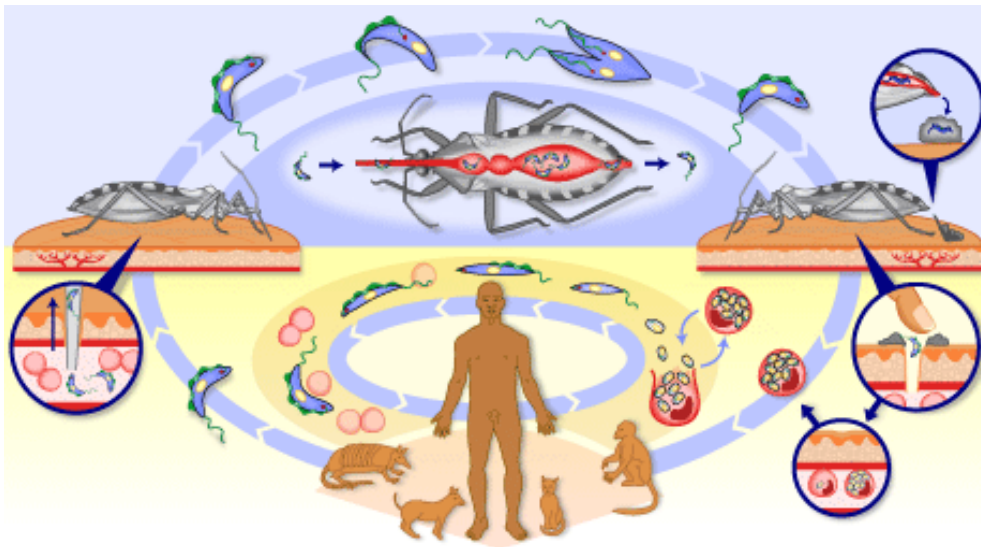


Figura 2. Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. (Fonte WHO/TDR <http://www.who.int/tdr/diseases/chagas/lifecycle.htm>).

Epimastigotas alongados, antes de se diferenciarem na forma tripomastigota metacíclica, se ligam via interação hidrofóbica, por meio de uma área especializada do flagelo, à camada superficial da cutícula (constituída principalmente de lipídeos) do intestino posterior, principalmente no reto, dos triatomíneos (Kollien *et al.*, 1998; Schmidt *et al.*, 1998).

A diferenciação em tripomastigota metacíclico é denominada metaciclogênese e pode ser disparada pela interação entre o flagelo e a camada superficial da cutícula, sendo um processo mediado por cAMP. Após sua formação, as formas metacíclicas se desprendem da cutícula e são excretadas. Estas formas infectivas podem alcançar a corrente sanguínea por meio de membranas mucosas ou de discontinuidades na pele do hospedeiro mamífero (Rey, 1991; Kollien *et al.*, 1998; Schmidt *et al.*, 1998).

Após entrarem no hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas metacíclicos podem invadir uma variedade de células e, assim, iniciar seu ciclo intracelular, que dura em torno de quatro a cinco dias. Ao alcançar o citoplasma da célula hospedeira, o parasito se diferencia na forma amastigota, o estágio intracelular replicativo. Neste estágio, ocorre replicação por divisão binária, formando um pseudocisto. Em alta densidade, os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas. Uma vez formados, os tripomastigotas rompem as células dentro do sangue ou linfa, podendo invadir novas células. Os tripomastigotas que não penetram em uma nova célula passam por uma mudança morfológica, transformando-se na forma amastigota. Os amastigotas também podem propagar a infecção, visto que são capazes de infectar outras células, particularmente fagocitárias. Por último, as formas tripomastigotas e amastigotas presentes na corrente sanguínea completam o ciclo de vida do *T. cruzi*, quando são ingeridas por um triatomíneo (Burleigh & Andrews, 1995; Rey, 1991).

A probabilidade média de produção de uma nova infecção por *T. cruzi* por meio do contato com um triatomíneo infectado é estimada de 1 em 1000 (Diotaiuti *et al.*, 2000a).

Aspectos biológicos dos triatomíneos

A ordem Hemiptera, amplamente distribuída nas regiões temperadas e tropicais, é rica em espécies, com mais de 82 mil descritas. Não existe ainda um consenso sobre a classificação da família Reduviidae, porém já foram propostas 32 subfamílias, com 912 gêneros e pelo menos 6.230 espécies. Exceto pela subfamília Triatominae, constituída por hematófagos obrigatórios, a maioria dos reduviídeos são predadores de insetos e outros

invertebrados, embora alguns sejam hematófagos facultativos ou oportunistas (Schofield, 1996).

Recentemente, a subfamília Triatominae foi dividida em seis tribos: Alberproseniini Martinez & Carcavallo, 1977; Bolboderini Usinger, 1944; Cavernicolini Usinger, 1944; Rhodniini Pinto, 1926; Triatomini Jeannel, 1919, e Linshcosteusini Carcavallo, Jurberg, Lent, Noireau & Galvão, 2000. Existem mais de 130 espécies distribuídas em 17 gêneros, sendo que apenas o gênero indiano *Linshcosteus* Distant, 1904 não é encontrado nas Américas (Carcavallo *et al.*, 2000). Apenas *Triatoma rubrofasciata* é cosmopolita, vivendo em cidades tropicais litorâneas de diversos países das Américas, da África, da Ásia e da Oceania (Diotaiuti *et al.*, 2000a; Schofield, 2000).

As características gerais dos triatomíneos são: cabeça alongada e mais ou menos fusiforme; pescoço nítido unindo a cabeça ao tórax e probóscida reta e trissegmentada, com a extremidade distal repousando no sulco estridulatório (exceto nos gêneros *Linshcosteus* e *Cavernicola* Barber, 1937). São insetos de hábitos noturnos, escondendo-se durante o dia em abrigos e atacando durante a noite, quando o hospedeiro dorme (Diotaiuti *et al.*, 2000a). Entretanto, quando famintos ou em locais sombrios, também picam durante o dia. A picada pode demorar 20 minutos ou mais, provocando, em algumas pessoas, uma intensa reação alérgica (Rey, 1991).

São insetos que possuem metamorfose incompleta, ou seja, o imaturo eclode em uma forma que se assemelha ao adulto exceto, principalmente, pelo pequeno tamanho e pela ausência das asas e de maturidade sexual. Da eclosão do ovo à fase adulta, passam por cinco estádios ninfais, com ausência total das asas posteriores e dos ocelos nos imaturos (Girón *et al.*, 1998).

Tanto as fêmeas quanto os machos são hematófagos obrigatórios em todas as fases do desenvolvimento, característica relacionada à incapacidade de sintetizar moléculas de ferroporfirinas, além da dependência de hematina como fator de crescimento (Rey, 1991). Alimentam-se de sangue de aves, mamíferos, répteis, anfíbios e até mesmo de hemolinfa de alguns invertebrados, como larvas de insetos e aranhas migalomorfas (Carcavallo *et al.*, 1998). A quantidade de sangue ingerida em cada repasto depende de vários fatores como o próprio estágio, espécie e condições ambientais. Por exemplo, *Triatoma infestans* (Klug, 1834) pode ingerir, em média, 5,6 mg de sangue no primeiro estágio e 394,1 mg no quinto estágio (Carcavallo *et al.*, 1998).

Em *Rhodnius* Stal, 1859, um único repasto, em cada um dos cinco estágios, pode ser suficiente para a indução da muda, a qual ocorre de dez a vinte dias após cada alimentação. O estímulo necessário para a indução é, provavelmente, a dilatação do abdômen devido à ingestão de sangue (Wigglesworth, 1984).

Os triatomíneos possuem uma grande resistência ao jejum, podendo permanecer, dependendo da espécie e do ínstar ninfal, mais de 200 dias sem alimentação. Essa característica pode ser de grande importância epidemiológica, dado que a resistência a grandes períodos de privação alimentar permite que o inseto se refugie em abrigos profundos, por tempo suficiente para escapar da ação residual dos inseticidas (Galvão *et al.*, 1996; Cabello, 2001; Moreira & Spata, 2002; Almeida *et al.*, 2003).

Existem três tipos de dejeções nos triatomíneos: fezes escuras, emitidas logo após ou algumas horas depois do repasto; urina cristalina, emitida logo após o repasto e urina amarelada, eliminada cerca de 24 a 48h após a alimentação. Qualquer um dos tipos de dejeção, em um triatomíneo infectado, pode conter a forma infectante (tripomastigota

metacíclico) de *T. cruzi*, porém, a urina é a que contém o maior número delas, pois, parece ter um papel importante na diferenciação da forma epimastigota em tripomastigota metacíclico (Diotaiuti *et al.*, 2000a).

Ao contrário dos machos, que copulam várias vezes durante sua vida adulta, as fêmeas, em geral, copulam apenas uma única vez. Iniciam a oviposição 10 a 20 dias após a cópula, em parcelas de 1 a 30 ovos por dia, até um total superior a 500 ovos por fêmea, variando com a alimentação, a temperatura, a umidade e a espécie (Rey, 1991). Não transmitem para os seus ovos o *T. cruzi*, eclodindo todas as ninfas livres do parasito. Além disso, o parasito não é patogênico para o barbeiro (Diotaiuti *et al.*, 2000a).

Os triatomíneos podem estar adaptados a ambientes silvestres, peridomésticos e domésticos. Inicialmente, porém, o *T. cruzi* parasitava principalmente animais silvestres, circulando entre pequenos mamíferos e vetores (Dias & Gontijo, 1998). Todavia, algumas espécies de triatomíneos adaptaram-se aos ambientes domésticos após terem sido deslocadas de seus ecótopos primitivos, devido aos processos de colonização humana (Ministério da Saúde, 1994), situação ocorrida com *T. infestans* e *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, os principais vetores domésticos da doença de Chagas (Cruz-López *et al.*, 2001). Nestes processos e atualmente, as casas rurais de péssima qualidade fornecem, para alguns triatomíneos, uma condição ideal de abrigo e oferta alimentar abundante, facilitando, assim, a transmissão do *T. cruzi* para os seres humanos (Vinhaes & Dias, 2000).

Apesar de todas as espécies de triatomíneos serem potenciais vetores do *T. cruzi*, alguns pré-requisitos são necessários para que uma espécie torne-se um real e efetivo transmissor da doença de Chagas. Estes são: alto grau de antropofilia, curto espaço de

tempo entre hematofagia e defecação e ampla distribuição geográfica (Diotaiuti *et al.*, 2000a).

Além do *T. cruzi*, os triatomíneos podem ser vetores do *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, protozoário não patogênico para hospedeiros vertebrados, do *Trypanosoma neotomae* e do *Trypanosoma conorrhini* (Donovan, 1909), parasitos de roedores silvestres e domésticos e, possivelmente, de primatas não humanos (Sousa, 1999; Diotaiuti *et al.*, 2000a; Guhl & Vallejo, 2003).

Estratégias de controle

Na ausência de vacinas ou de drogas disponíveis para intervenções em grande escala, a principal estratégia de controle é a prevenção (Ministério da Saúde, 1994). Assim, duas estratégias preventivas foram expressas pela Assembléia Mundial da Saúde (Resolução WHA 51.14): interrupção da transmissão vetorial e uma sistemática avaliação do sangue doado em todos os países endêmicos (WHO, 2002). No Brasil, prioriza-se a borrifação das casas infestadas como principal metodologia de controle desses hemípteros (Diotaiuti *et al.*, 2000b), apesar de existirem métodos alternativos, como a utilização de materiais impregnados com piretróides, que possuem efeitos repelentes e inseticidas, sendo utilizados principalmente para o controle de vetores silvestres (Kroeger *et al.*, 1997; Kroeger *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 1999; Herber & Kroeger, 2003; Kroeger *et al.*, 2003).

Controle de triatomíneos

Os inseticidas podem alcançar o alvo de quatro formas básicas: contato - o produto é absorvido pela cutícula; ingestão - absorção ao ser ingerido; fumigação - o produto é captado pelas vias respiratórias; sistêmico - o inseticida é absorvido pela planta ou animal,

atingindo o inseto por meio da seiva ou do sangue (Neves, 2000). Os principais inseticidas utilizados no controle de triatomíneos são absorvidos através do contato.

Os inseticidas sintéticos foram os primeiros a controlar, de forma eficaz, os vetores da doença de Chagas. Descobriu-se que o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (Figura 3) era ineficaz em *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) e *T. infestans*, porém observou-se que outras duas organoclorinas, dieldrina e gama-hexaclorociclohexano (gama-BHC), eram eficazes quando aplicadas nas paredes das casas infestadas (Dias & Pellegrino, 1948; Dias *et al.*, 2002).

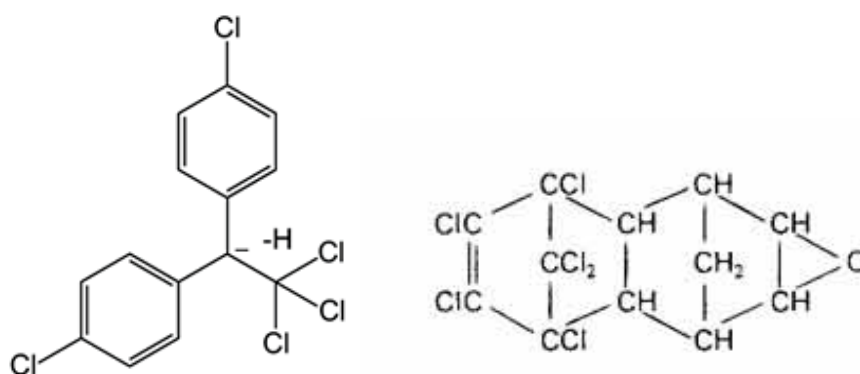


Figura 3. Estrutura química dos inseticidas DDT e dieldrina.

Anos depois, testes comparativos demonstraram que os inseticidas sintéticos piretróides (Figura 4) eram mais eficazes em eliminar triatomíneos de casas infestadas que o gama-BHC, mesmo em doses baixas e se aplicados somente uma vez (Dias *et al.*, 2002). Exemplos de casos que utilizam os piretróides como principal inseticida no controle de barbeiros são Uruguaí e Chile, que foram declarados livres de transmissão vetorial em 1997 e 1999, respectivamente (Miles *et al.*, 2003), e dos estados brasileiros (Goiás, Mato Grosso,

Mato Grosso do Sul, Paraíba, Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais) que ficaram livres de transmissão vetorial em 2000-2001 (Dias *et al.*, 2002).

Apesar dos programas de controle baseados na aplicação de inseticidas terem obtido grande sucesso, são necessários programas de observação das áreas endêmicas, visto que existe a possibilidade de uma reinfestação das casas, devido à existência de triatomíneos silvestres (WHO, 2002).

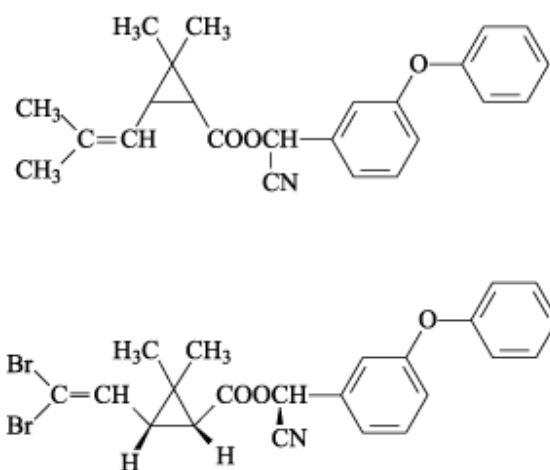


Figura 4. Estrutura química dos piretróides cipermetrina e deltametrina.

Embora os triatomíneos apresentem baixa resistência a pesticidas quando comparados aos mosquitos (Flores *et al.*, 2001), o desenvolvimento de resistência aos piretróides demonstra a necessidade de pesquisas em busca de novos compostos com atividades inseticidas, pois determinadas populações de *R. prolixus* da Venezuela e de *T. infestans* do Brasil (Zerba, 1999; Vassena *et al.*, 2000; Picollo, 2001; Vassena & Picollo, 2003) e Argentina (Zerba, 1999; Picollo, 2001; Vassena & Picollo, 2003; Audino *et al.*,

2004) já demonstraram resistência a deltametrina e outros piretróides usados no controle de vetores da doença de Chagas.

Além disso, a utilização indiscriminada de inseticidas sintéticos tem contaminado o ambiente e os organismos vivos (Raizada *et al.*, 2001; Abdollahi, *et al.*, 2004; Nakata *et al.*, 2005), fazendo-se necessário, portanto, o desenvolvimento de inseticidas com um menor impacto ambiental. Ademais, mamíferos expostos a piretróides, de forma aguda e subcrônica, apresentaram vários sinais de neurotoxicidade (Soderlund *et al.*, 2002; Kolaczinski & Curtis, 2004; Shafer *et al.*, 2005).

Diversas plantas apresentam compostos inseticidas capazes de afetar processos peculiares às pestes-alvo, perturbando o comportamento de alimentação, os reguladores de crescimento e o balanço endócrino (Balandrin *et al.*, 1985), além de serem comumente conhecidos por causar menores danos ao ambiente. Para os compostos quassinóides (Figura 5), encontrados em plantas da família Simaroubaceae, alterações no comportamento alimentar e na regulação do crescimento foram verificadas em *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Noctuidae) (Govindachari *et al.*, 2001), além de atividade inseticida em *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari, Tetranychidae), em *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera, Aphididae) e em *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) (Nematoda, Heteroderidae) (Latif *et al.*, 2000).

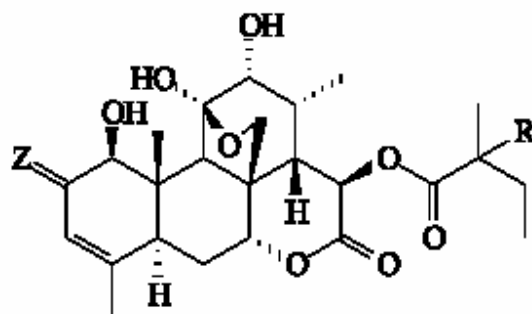


Figura 5. Estrutura química de um quassinoide (Glaucarubinona Z=O e R=OH).

Um outro exemplo de inseticida de origem vegetal é o triterpenóide azadiractina (Figura 6), proveniente da *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), que parece ser seletiva, não mutagênica, rapidamente degradável, com baixa toxicidade para mamíferos, além de causar uma mínima desordem para o ecossistema (Sundaram, 1996; Gupta, 2004). Esta substância, em *R. prolixus*, além de inibir a alimentação, também paralisa o desenvolvimento do inseto, bloqueando a síntese de uma cutícula nova por meio da interferência na síntese e/ou liberação de ecdisteróides (Gonzalez *et al.*, 1998). Ainda, foram encontradas modificações ultra-estruturais nas células epiteliais do intestino médio, capazes de impedir o desenvolvimento de *T. cruzi*, em *R. prolixus* alimentados com azadiractina A (Nogueira *et al.*, 1997).

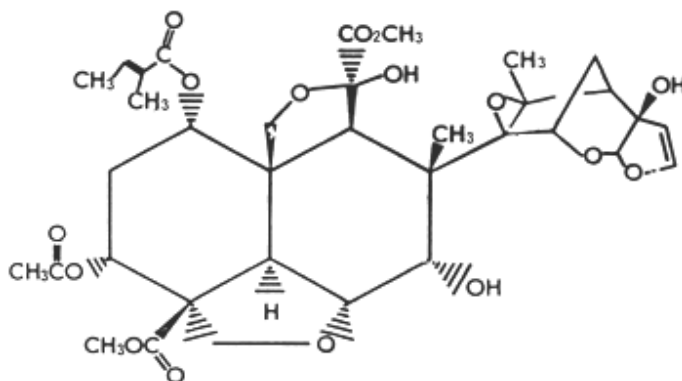


Figura 6. Estrutura química da azadiractina.

Atividade inseticida de produtos naturais em triatomíneos

Um dos primeiros trabalhos avaliando a atividade inseticida de extratos brutos de plantas em triatomíneos foi realizado por Leite *et al.* (1987). Os autores testaram cinco espécies de vegetais com alguma atividade inseticida conhecida, *Ruta graveolens* L. (Rutaceae), *Bixa orellana* L. (Bixaceae), *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), *Eucalyptus argentea* Blakely (Myrtaceae) e *Eucalyptus citriodora* Hook, em ninfas do primeiro estágio de *Dipetalogaster maxima* (Uhler, 1894). Após 15 dias de observação, *R. graveolens* e *E. argenteum* levaram a um aumento significativo na mortalidade de *D. maxima*.

Rojas de Arias & Schmeda-Hirschmann (1988) analisaram os efeitos dos extratos hexânicos e etanólicos dos frutos de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) em ninfas do quarto estágio de *T. infestans* e observaram que nenhum extrato possuiu uma boa atividade inseticida. Constataram, ainda, que os dois extratos eram repelentes, apesar de não serem fortes o suficiente para impedir a alimentação dos insetos em pombos. Concluíram, dessa maneira, que esses frutos não são uma alternativa promissora para o controle dos vetores da doença de Chagas.

Valladares *et al.* (1999) realizaram um estudo semelhante ao anterior, obtendo resultados similares: os extratos dos frutos de *M. azederach* possuem atividade repelente, mas não apresentam atividade inseticida nem ovicida. No entanto, relataram que as ninfas de primeiro estágio expostas aos refúgios tratados com os extratos eram, após a ecdise, menores e mais leves que os controles. Por isso, sugeriram que *M. azederach* merecia uma atenção maior, pois esse efeito poderia ser grande se acumulado ao longo do ciclo de vida do inseto.

Schmeda-Hirschmann & Rojas de Arias (1992) propuseram um método de *screening* para produtos naturais em triatomíneos, testando topicamente 94 extratos de plantas em ninfas do quarto estágio de *T. infestans* e *Rhodnius neglectus* Lent, 1954. Para o *screening*, *R. neglectus* provou ser mais adequado, pois seu desenvolvimento é mais rápido e a mortalidade natural é baixa. Das 49 espécies de plantas testadas, dez levaram a um aumento significativo na taxa de mortalidade de *R. neglectus* (16% a 52,3%), sendo o extrato de éter de petróleo da parte aérea de *Salvia cardiophylla* Benth. (Lamiaceae) o mais ativo.

Rojas de Arias *et al.* (1995) analisaram 19 extratos de plantas da família Asteraceae em ninfas do quarto estágio de *T. infestans* e apenas o extrato hexânico das flores de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae) apresentou um aumento significativo na taxa de mortalidade (45%).

Fournet *et al.* (1996) compararam a atividade inseticida dos óleos essenciais de *Minthostachys andina* (Brett.) Epling (Lamiaceae) e *Hedeoma mandoniana* Wedd. (Lamiaceae) em ninfas do quarto estágio de *T. infestans* e *R. neglectus*. Os resultados

indicaram que o óleo de *M. andina* foi o mais ativo e que *R. neglectus* apresentou uma maior taxa de mortalidade no teste de contato quando comparado ao *T. infestans*.

Laurent *et al.* (1997) também realizaram estudos com óleos essenciais em *T. infestans*. Utilizaram dois testes para verificar a atividade inseticida, o tópico e o de contato, e concluíram que o de contato foi o mais sensível, apesar de necessitar de um período maior de observação. Segundo os autores, isso pode ter ocorrido porque os óleos essenciais são compostos de substâncias voláteis que, quando aplicadas diretamente nos insetos, perderiam rapidamente sua ação devido à evaporação dos componentes ativos.

Souza *et al.* (1991) estudaram a influência de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), conhecida popularmente como erva-de-santa-maria, na mortalidade de *T. infestans*. Os autores adicionaram 250 µL do extrato para cada mL de sangue de rato utilizado na alimentação, observando a mortalidade durante três meses. Concluíram que *C. ambrosioides* não se afigura promissora como inseticida devido ao pequeno aumento na taxa de mortalidade dos triatomíneos.

A tabela I resume os principais dados encontrados na literatura a respeito da atividade inseticida de extratos de plantas sobre triatomíneos em relação ao teste tópico.

Tabela I – Revisão bibliográfica da avaliação da atividade inseticida de plantas sobre triatomíneos.

Família	Espécies de plantas	Parte da planta	Solvente	Mortalidade teste tópico (%)	N	Espécie de triatomíneo	Referência
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Casca	Éter de petróleo	Não significativo	20	<i>Rhodnius neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
	<i>Schinus molle</i>	Semente	Etanol	25	20	<i>Triatoma infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Schinus polygamus</i>	Folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Schinus pearcei</i>	Folha	Etanol	10	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Annonaceae	<i>Annona reticulata</i>	Semente	Etanol	35	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
Apiaceae	<i>Coriandrum sativum</i>	Semente	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Eryngium</i> sp.	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Foeniculum vulgare</i>	Semente	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Pimpinella anisum</i>	Semente	Etanol	30	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Asteraceae	<i>Acanthostyles buniifolium</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Achyrocline satureoides</i>	Caule e folha	Hexano	8,3	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
Flor		Hexano	45	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)	

	Flor e folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Parte aérea	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Baccharis genistelloides</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Baccharis latifolia</i>	Parte aérea	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Baccharis notoserghila</i>	Caule	Etanol	15	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Raiz	Etanol	10	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
<i>Baccharis pentandlii</i>	Folha	Etanol	10	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Baccharis salicifolia</i>	Folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Parte aérea	Etanol	10	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Chromoleana christieana</i>	Raiz	Etanol	8,3	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Caule	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Folha	Etanol	8,3	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
<i>Chrysanthemum parthenium</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)

<i>Coniza rurigena</i>	Parte aérea	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Coreopsis fasciculata</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Gnaphalium gaudichaudianum</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Gochnatia barrosii</i>	Flor e folha	Hexano	15	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Flor e folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Caule	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
<i>Gochnatia polymorpha</i>	Folha	Hexano	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Folha	Etanol	15	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Caule	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
<i>Gynoxis</i> sp.	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Matricaria chamomilla</i>	Flor	Etanol	15	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Mikania cordifolia</i>	Caule	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Raiz e folha	Etanol	8,3	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)

<i>Neurolaena lobata</i>	Parte aérea	Éter	25	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
<i>Parastrephia lepidophylla</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Pluchea fastigiata</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Porophyllum ruderale</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Senecio adenophylloides</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Senecio hebeaus</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Spilanthes</i> sp.	Parte aérea	Etanol	Não significativo	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
<i>Tagetes erecta</i>	Parte aérea	Etanol	Não significativo	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
<i>Tagetes minuta</i>	Parte aérea	Etanol	5	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Tagetes minuta</i>	Folha	Etanol	30	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
<i>Tagetes pusilla</i>	Parte aérea	Etanol	5	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
<i>Vernonia brasiliiana</i>	Caule	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
	Folha	Hexano	0	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)

		Folha	Etanol	5	20	<i>T. infestans</i>	Rojas de Arias <i>et al.</i> (1995)
Buddlejaceae	<i>Buddleja</i> sp.	Parte aérea	Etanol	30	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Buddleja tucumanensis</i>	Parte aérea	Etanol	10	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Capparaceae	<i>Cleoma albida</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Cleoma espinosa</i>	Parte aérea	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylon tortuosum</i>	Fruto	Etanol	35	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda- Hirschmann & Arias (1992)
Lamiaceae	<i>Hedeoma mandoniana</i>	Parte aérea	Acetona	33,33	12	<i>R. neglectus</i>	Fournet <i>et al.</i> (1996)
		Parte aérea	Etanol	15	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Lepechinia floriunda</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Lepechinia graveolens</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Lepechinia meyeri</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Mentha arvensis</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Minthostachys andina</i>	Parte aérea	Acetona	50	12	<i>R. neglectus</i>	Fournet <i>et al.</i> (1996)

		Parte aérea	Etanol	45	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Minthostachys mollis</i>	Parte aérea	Etanol	5	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Minthostachys</i> sp.	Parte aérea	Éter de petróleo	16	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
	<i>Ocimum basilicum</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Salvia cardiophylla</i>	Parte aérea	Éter de petróleo	52,3	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
	<i>Salvia hankei</i>	Parte aérea	Etanol	20	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Satureja boliviana</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Satureja</i> sp.	Parte aérea	Etanol	40	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Leguminosae	<i>Cassia</i> sp.	Caule	Éter de petróleo	23,8	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
	<i>Senna occidentalis</i>	Fruto	Éter de petróleo	25	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
		Fruto	Etanol	40	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
Meliaceae	<i>Cabralea canjerana</i>	Folha	Etanol	45	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)

		Folha	Éter de petróleo	32,5	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
		Folha	Etanol	20	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
		Fruto	Éter de petróleo	25	20	<i>R. neglectus</i>	Schmeda-Hirschmann & Arias (1992)
Myrtaceae	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Eucalyptus globulus</i>	Folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Pinaceae	<i>Pinus radiata</i>	Folha	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Vetiveria zizanioides</i>	Raiz	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Verbenaceae	<i>Aloysia gratissima</i>	Folha	Etanol	30	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Lantana sp.</i>	Parte aérea	Etanol	35	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
	<i>Limpia boliviana</i>	Parte aérea	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)
Zingiberaceae	<i>Custus albiflora</i>	Raiz	Etanol	0	20	<i>T. infestans</i>	Laurent <i>et al.</i> (1997)

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas: Foram coletadas no entorno de Brasília, Distrito Federal, em 2002 e 2003, juntamente com o botânico Prof. Dr. José Elias de Paula, do Laboratório de Anatomia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília. As excisatas estão depositadas no Herbário (UB) da Universidade de Brasília (tabela II).

Preparação dos extratos: As diferentes espécies foram dessecadas, estabilizadas, pulverizadas e, então, submetidas a um processo de extração por maceração com hexano (4 x 2 L) e depois com etanol 95% (4 x 2 L). Os extratos brutos hexânicos e etanólicos foram obtidos após evaporação dos solventes sob pressão reduzida a 40°C.

Insetos: Ninfas no quarto ínstar de *Rhodnius milesi* e no primeiro ínstar de *Dipetalogaster maxima* criadas em laboratório foram alimentadas em galinhas até ficarem saciadas. Após 24 horas, os insetos foram topicamente tratados com uma alíquota de cada extrato testado.

Teste tópico: Uma solução estoque contendo 50 mg de extrato por mL de solvente foi preparada para cada amostra e 1 µL da solução foi aplicada diretamente sobre os tergitos abdominais de ninfas do quarto ínstar de *R. milesi* ou primeiro ínstar de *D. maxima*. Os extratos etanólicos foram dissolvidos em etanol 95% e os extratos hexânicos, em acetona. Três tipos de controle foram utilizados: insetos tratados com etanol, insetos tratados com acetona e insetos sem nenhum tipo de tratamento. Para cada extrato avaliado, foram utilizadas dez ninfas em duplicata. Os insetos foram observados diariamente durante 28 dias.

Critério de morte: foram considerados mortos os insetos que não tiveram atividade motora própria, seja de forma espontânea ou quando estimulados por um pincel ou pinça (WHO, 1994).

Análise estatística: O teste Q de Cochran foi usado para avaliar as diferenças entre os grupos tratados e os controles (Bisquerra *et al.*, 2004), utilizando-se o programa SPSS – versão 11.5 (SPSS, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, 101 extratos pertencentes a 38 espécies diferentes de plantas do Cerrado foram testados topicamente em ninfas do quarto ínstar de *R. milesi* ou primeiro ínstar de *D. maxima*.

Pode-se observar na tabela III que os extratos brutos de *Simarouba versicolor* (casca da raiz hexano e etanol; casca do caule etanol; fruto hexano e etanol), *Guarea kunthiana* (raiz etanol; caule hexano e etanol), *Guarea guidonia* (raiz hexano e etanol; caule hexano e etanol; folha hexano) e *Talauma ovata* (madeira do caule hexano) levaram a um aumento significativo (teste Q de Cochran; $P < 0,05$) na taxa de mortalidade de *R. milesi* (20% a 95%) quando comparados aos controles aos 28 dias de aplicação.

Seis extratos ativos foram obtidos do caule, cinco da raiz, um das folhas e dois dos frutos. Dos 14 extratos ativos, sete eram etanólicos e sete hexânicos. Entretanto, as substâncias de polaridades distintas existentes nos extratos hexânicos e etanólicos apresentaram taxas diferentes de atividade. Por exemplo, com a casca da raiz de *S. versicolor* a taxa de mortalidade foi de 35% para o extrato hexânico e 95% para o etanólico. Já para a raiz de *G. guidonia* ocorreu o inverso, a mortalidade maior ocorreu com o extrato hexânico (75%), enquanto o etanólico apresentou apenas 20%.

Os extratos etanólicos da casca da raiz e do fruto e o extrato hexânico do fruto de *S. versicolor* e o extrato hexânico da raiz de *G. guidonia* foram os mais ativos, mostrando uma boa eficácia (95%, 80%, 65% e 75%, respectivamente) para o teste tópico quando comparados a dados de literatura (Rojas de Arias & Schmeda-Hirschmann, 1988; Schmeda-

Hirschmann & Rojas de Arias, 1992; Rojas de Arias *et al.*, 1995; Fournet *et al.*, 1996; Laurent *et al.*, 1997).

Quando se comparam os testes em relação aos diferentes tempos de exposição, variações podem ser observadas. A avaliação da mortalidade nos diferentes períodos mostra extratos com uma rápida ou uma lenta atividade nos insetos. Para a espécie *S. versicolor*, o extrato etanólico da casca da raiz matou praticamente todos os triatomíneos, com a taxa de mortalidade gradualmente aumentando ao longo dos dias, matando 15% após 24h, 35% depois de 48h, 50% no sétimo dia e 95% após três semanas, permanecendo assim até o último dia do teste.

O extrato hexânico da casca da raiz da mesma planta apresentou uma atividade menos intensa, matando 5% após uma semana e alcançando 35% após 28 dias do tratamento. O fruto dessa mesma espécie levou a um aumento gradual na taxa de mortalidade para os extratos de diferentes polaridades. O extrato etanólico apresentou um aumento de 35% na mortalidade entre o sétimo e o décimo quarto dia, enquanto o hexânico aumentou esta taxa em apenas 10%. Observou-se atividade, em relação à casca do caule de *S. versicolor*, somente para o extrato etanólico, com a mortalidade crescendo de 5% a 50% entre o primeiro e o último dia do experimento.

O extrato hexânico da madeira do caule de *T. ovata* apresentou uma atividade baixa, porém mais rápida, matando 20% após 48h e permanecendo com esta taxa até o vigésimo oitavo dia. Todavia, o extrato hexânico do caule de *G. kunthiana* proporcionou a atividade mais rápida, visto que matou 25% dos insetos nas primeiras 24h do experimento, alcançando uma taxa de 40% após a primeira semana.

Das cinco espécies testadas em *R. milesi*, apenas *S. versicolor* é popularmente utilizada como inseticida, além de ser utilizada como vermicida, estimulante, febrífuga e anti-sifilítica (Balbach, 1995). O uso medicinal dessa planta é atribuído à presença do grupo químico quassinoide, que determina um sabor extremamente amargo a todas as partes da planta (Lorenzi & Abreu Matos, 2002). Foi descrito que os quassinóides podem alterar o comportamento de alimentação e a regulação de crescimento em alguns insetos (Govindachari *et al.*, 2001), além de possuírem atividade inseticida (Latif *et al.*, 2000). Arriaga *et al.* (2002) isolaram quassinóides, triterpenóides, uma mistura de esteróides e o flavonóide canferol de *S. versicolor*.

G. guidonia é amplamente empregada na medicina caseira em várias regiões do Brasil, possuindo propriedades adstringente, purgativa, febrífuga, abortiva, emética e antiinflamatória (Lorenzi & Abreu Matos, 2002), além de possuir atividade antimalárica (Weniger *et al.*, 2001). A análise fitoquímica desta planta registrou a presença de limonóides, triterpenos, esteróides, diterpenos, sesquiterpenos e cumarinas (Lago *et al.*, 2002). Existem estudos demonstrando que as cumarinas e os terpenos possuem uma ampla atividade inseticida, sendo os limonóides os maiores representantes dentre os terpenos com esta característica (Viera & Fernandes, 1999; Viegas Júnior, 2003).

É interessante observar que *G. guidonia* e *G. kunthiana* são pertencentes à família Meliaceae, a mesma família do nim (*Azadirachta indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*), plantas de onde foram isoladas os compostos inseticidas azadiractina, salanina e meliantriol (Viegas Júnior, 2003). Como citado anteriormente, já foi observado que a azadiractina inibe a alimentação e paralisa o desenvolvimento, bloqueando a síntese de uma cutícula nova em *R. prolixus* (Gonzalez *et al.*, 1998). É possível que *G. guidonia* e *G. kunthiana* tenham

compostos com estruturas similares aos já isolados em outras espécies da família Meliaceae.

Os modos de ação dos extratos mais ativos podem estar diretamente relacionados aos compostos terpenóides, visto que são substâncias muitas vezes produzidas pelas plantas com a finalidade de protegê-las contra a herbivoria, sendo que a inibição da acetilcolinesterase é um dos mecanismos encontrados (Viegas Júnior, 2003). A acetilcolina deve ser removida da fenda sináptica por meio de uma hidrólise catalisada pela acetilcolinesterase, caso isso não aconteça, ocorre o acúmulo do neurotransmissor na fenda, impedindo uma transmissão correta do potencial de ação, podendo levar o animal à morte por falência respiratória (Chambers & Carr, 1995).

Apesar dos extratos brutos de *Annona crassiflora* (casca da raiz e madeira da raiz etanol), *Casearia sylvestris* var. *lingua* (casca do caule hexano), *Duguetia furfuracea* (madeira da raiz hexano), *Piptocarpha rotundifolia* (madeira da raiz hexano), *Serjania lethalis* (casca da raiz etanol), *Xylopiia aromatica* (folha etanol) (Rodrigues, 2004) e *Magonia pubescens* (casca do caule etanol) (Arruda *et al.*, 2003) apresentarem atividade inseticida significativa em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), no presente estudo, nenhum desses extratos levou a um aumento significativo na taxa de mortalidade de *D. maxima* (tabela IV). Além da possibilidade dos extratos não serem tóxicos para *D. maxima*, a diferença pode estar relacionada, também, com a forma de administração dos compostos, dado que em *A. aegypti* o produto foi absorvido via ingestão, enquanto nos triatomíneos a absorção ocorreu por meio tópico.

É importante ressaltar que apesar de *S. versicolor* ser popularmente utilizada como inseticida e ter elevado significativamente a taxa de mortalidade em *R. milesi*, nenhum

efeito na mortalidade foi observado em *D. maxima*, indicando uma diferença na sensibilidade entre as duas espécies de hemípteros testadas em relação aos compostos dos extratos. Situação semelhante foi verificada por Fournet *et al.* (1996) quando testaram o óleo essencial de *Minthostachys andina* (Lamiaceae) em *R. neglectus* e *T. infestans*, observando que *R. neglectus* era mais sensível aos compostos inseticidas que *T. infestans*.

Essas diferenças podem estar relacionadas aos vários mecanismos de desintoxicação existentes nos insetos. É possível que *D. maxima* e *T. infestans* tenham mecanismos mais próximos quando comparados aos mecanismos do gênero *Rhodnius*, visto que tanto *D. maxima* quanto *T. infestans* pertencem à tribo Triatomini, enquanto o gênero *Rhodnius* pertence à tribo Rhodniini. Como verificado em *T. infestans* por Audino *et al.* (2004), a resistência a determinados inseticidas pode estar relacionada a uma maior atividade de enzimas responsáveis pela desintoxicação, como esterases e monooxigenases do citocromo P-450.

As oxigenases, por exemplo, catalisam reações oxidativas, podendo incorporar ao substrato um átomo de oxigênio ou dois, caso sejam mono ou dioxigenases. A hidroxilação de diferentes drogas, como as realizadas pelo citocromo P-450, transforma compostos hidrofóbicos estranhos ao organismo em substâncias mais solúveis em água, permitindo uma melhor eliminação na urina, diminuindo, assim, sua toxicidade ao animal (Freitas *et al.*, 2005). Existe a possibilidade de *D. maxima* e *T. infestans* possuírem uma maior atividade dessas enzimas em relação ao *Rhodnius*, o que explicaria, pelo menos em parte, a menor toxicidade dos compostos nesses triatomíneos.

Todavia, os extratos hexânico do fruto e etanólico da casca do caule de *S. versicolor* foram os únicos que alteraram significativamente ($P < 0,05$; teste Q de Cochran) a taxa de

ecdise em *D. maxima*, com um percentual de inibição de 40% e 25%, respectivamente. Os triterpenóides são conhecidos por alterar a regulação do crescimento em uma diversidade de pestes agrícolas (Govindachari *et al.*, 2000). Como observado anteriormente, já foram isolados de *S. versicolor* triterpenóides, além de quassinóides, que são triterpenóides modificados. Dessa forma, pode-se esperar que a inibição de ecdise esteja relacionada com estas substâncias. Assim, esses compostos poderiam ser utilizados, juntamente com moléculas inseticidas, em programas de controle de triatomíneos para aumentar a eficácia do procedimento.

Por outro lado, os resultados confirmam a importância do estudo da etnobotânica para a pesquisa em busca de novas substâncias ativas, pois das 38 espécies testadas, *S. versicolor*, tradicionalmente utilizada como pesticida em diversas regiões do Brasil, foi a que apresentou melhor atividade inseticida nos triatomíneos testados.

Enfim, sugere-se que o extrato etanólico da casca da raiz de *S. versicolor* e o extrato hexânico da raiz de *G. guidonia*, os quais foram responsáveis por uma taxa de mortalidade sobre *R. milesi* de 95% e 75%, respectivamente, devam ser quimicamente investigados e monitorados por ensaios biológicos a fim de determinar seus componentes inseticidas. Desse modo, estas substâncias poderiam ser utilizadas como modelos moleculares para um potencial pesticida ou recomendados como compostos biorracionais nos programas de controle de triatomíneos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

ALMEIDA, C. E.; FRANCISCHETTI, C. N.; PACHECO, R. S.; COSTA, J. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera-Reduviidae-Triatominae) III: Patterns of feeding, defecation and resistance to starvation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 367-371, 2003.

ARRIAGA, A. M. C.; MESQUITA, A. C.; POULIQUEN, Y. B. M.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G.; SIQUEIRA, J. A.; ALEGRIO, L. V.; BRAZ-FILHO, R. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 74, p. 415-424, 2002.

ARRUDA, W.; OLIVEIRA, G. M. C.; SILVA, I. G. Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 17-25, 2003.

AUDINO, P. G.; VASSENA, C.; BARRIOS, S.; ZERBA, E.; PICOLLO M. I. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 335-339, 2004.

AUFDERHEIDE, A. C.; SALO, W.; MADDEN, M.; STREITZ, J.; BUIKSTRA, J.; GUHL, F.; ARRIAZA, B.; RENIER, C.; WITTMERS, L. E.; FORNACIARI, G.; ALLISON, M. 9000-year record of Chagas' disease. **PNAS**, v. 101, p. 2034-2039, 2004.

BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A.; WURTELE, E. S.; BOLLINGER, W. H. Natural plant chemicals: source of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, p.1154-1160, 1985.

BALBACH, A. **As Plantas Curam**. 1º ed. São Paulo: Edições Vida Plena, 1995. 415p.

BISQUERRA, R.; SARRIERA, J.C.; MARTÍNEZ, F. **Introdução à Estatística: enfoque informático com o pacote estatístico SPSS**. 1º ed. São Paulo: Artmed Editora S.A., 2004. 256p.

BRENER, Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. **Annual Review of Microbiology**, v. 27, p. 347-382, 1973.

- BURLEIGH, B. A.; ANDREWS, N. W. The mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. **Annual Review of Microbiology**, v. 49, p. 175-200, 1995.
- CABELLO, D. R. Resistance to starvation of *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under experimental conditions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 587-591, 2001.
- CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J.; LENT, H.; NOIREAU, F.; GALVÃO, C. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) proposals for taxonomic arrangements. **Entomologia y Vectores**, v.7, p.1-99, 2000.
- CARCAVALLO, R. U.; ROCHA, D. S.; GIRÓN, I. G.; GALVÃO, C.; MARTÍNEZ, A.; TONN, R. J.; CORTON, E. Fontes e padrões alimentares. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. **Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas**. 1º ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1998. p. 537-560.
- CHAMBER, J. E.; CARR, R. L. Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. **Toxicology**, v. 105, p. 291-304, 1995.
- COURA, J. R. Tripanosomose, doença de Chagas. **Ciência e Cultura**, vol. 55, p. 30-33, 2003.
- CRUZ-LÓPEZ, L.; MALO, E. A.; ROJAS J. C.; MORGAN, E. D. Chemical ecology of triatomine bugs: vectors of Chagas disease. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, p. 351-357, 2001.
- DIAS, J. C. P.; GONTIJO, E. D. Epidemiologia da doença de Chagas. In: RIBEIRO, A.L.P. **Manejo clínico em doença de Chagas**. 1º ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1998. p.13-18.
- DIAS, E.; PELLEGRINO, J. Alguns ensaios com o “Gammexane” no combate aos transmissores da doença de Chagas. **Brasil-Médico**, v. 62, p. 185-191, 1948.
- DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C. SCHOFIELD, C. J. The impact of Chagas disease control in Latin America – A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 603-612, 2002.
- DIOTAIUTI, L.; FILHO, O. F. F.; CARNEIRO, F. C. F.; DIAS, J. C. P.; PIRES, H. H. R.; SCHOFIELD, C. J. Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis*. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, p. 61-67, 2000b.
- DIOTAIUTI, L.; PEREIRA, M. H.; ESPÍNOLA, H. N. Hemiptera. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 10º ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000a. p. 292-306.

FLORES A. E.; BADII, M. H.; PONCE, G. G. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. **Revista Salud Pública y Nutrición**, v. 2, p. 1-9, 2001.

FOURNET, A.; ROJAS DE ARIAS, A.; CHARLES, B.; BRUNETON, J. Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas' disease vectors. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, p. 145-149, 1996.

FREITAS, D. R. J.; POHL, P. C.; VAZ JUNIOR, I. S. Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato *Boophilus microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 109-117, 2005.

GALVÃO, C.; JURBERG, J.; LENT, H. Resistência ao jejum de *Triatoma nitida* Usinger, 1939 em laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 639-640, 1996.

GIRÓN, I. G.; ROCHA, D. S.; LENT, H.; CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; BARBOSA, H. S.; MARTÍNEZ, A.; BARATA, J. M. S.; ROSA, J. A. Estádios ninfais. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. **Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas**. 1° ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1998. p. 449-513.

GONZALEZ, M. S.; AZAMBUJA, P.; GARCIA, E. S. Influência da regulação hormonal de triatomíneos sobre o desenvolvimento do *Trypanosoma cruzi*. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. **Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas**. 1° ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1998. p. 665-707.

GOVINDACHARI, T. R.; KUMARI, G. N. K.; GOPALAKRISHNAN, G.; SURESH, G.; WESLEY, S. D.; SREELATHA, T. Insect antifeedant and growth regulating activities of quassinoids from *Samadera indica*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 568-571, 2001.

GUHL, F.; VALLEJO, G. A. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: an updated review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 435-442, 2003.

GUPTA, P. K. Pesticide exposure: Indian scene. **Toxicology**, v. 198, p. 83-90, 2004.

HERBER, O.; KROEGER, A. Pyrethroid-impregnated curtains for Chagas' disease control in Venezuela. **Acta Tropica**, v. 88, p. 33-38, 2003.

JORG, M. E. *Cimex lectularius*, L. (la chinche comum de cama) transmissor de *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.25, p. 277-278, 1992.

- 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.
- KOLLIEN, A. H.; SCHMIDT, J.; SCHAUB, G. A. Modes of association of *Trypanosoma cruzi* with the intestinal tract of the vector *Triatoma infestans*. **Acta Tropica**, v. 70, p. 127-141, 1998.
- KROEGER, A.; MEYER, R.; MANCHENO, M.; GONZALEZ, M.; PESSE, K. Operational aspects of bednet impregnation for community-based malaria control in Nicaragua, Ecuador, Peru and Colombia. **Tropical Medicine and International Health**, v. 2, p. 589-602, 1997.
- KROEGER, A.; ORDONEZ-GONZALEZ, J.; BEHREND, M.; ALVAREZ, G. Bednet impregnation for Chagas disease control: a new perspective. **Tropical Medicine and International Health**, v. 4, p. 194-198, 1999.
- KROEGER, A.; VILLEGAS, E.; ORDOÑEZ-GONZÁLEZ, J.; PABON, E.; SCORZA, J. V. Prevention of the transmission of Chagas' disease with pyrethroid-impregnated materials. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, p. 307-311, 2003.
- LAGO, J. H. G.; BROCHINI, C. B.; ROQUE, N. F. Terpenoids from *Guarea guidonia*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 333-338, 2002.
- LATIF, Z.; CRAVEN, L.; HARTLEY, T. G.; KEMP, B. R.; POTTER, J.; RICE, M. J.; WAIGH, R. D.; WATERMAN, P. G. An insecticidal quassinoid from the new australian species *Quassia* sp. aff. *bidwillii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 183-184, 2000.
- LAURENT, D.; VILASECA, L. A.; CHANTRAINE, J. M.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R. Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 285-290, 1997.
- LEITE, F. E. M.; ZAPATA, M. T. G.; SOARES, V. A.; MARSDEN, P. D. Avaliação laboratorial de inseticidas de origem vegetal utilizando *Dipetalogaster maxima* como agente de teste. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Suppl. I, v. 82, p. 201, 1987.
- LORENZI, H.; ABREU MATOS, F. J. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 1º ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002. 544 p.
- MILES, M. A.; FELICIANGELI, M. D.; ROJAS DE ARIAS, A. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. **British Medical Journal**, v. 326, p. 1444-1448, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Controle da doença de Chagas: Diretrizes técnicas**, 1º ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1994. 80 p.

MOREIRA, C. J. C.; SPATA, M. C. D. Dynamics of evolution and resistance to starvation of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Reduviidae: Triatominae), submitted to two different regimens of food deprivation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1049-1055, 2002.

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.

NEVES, D. P. Controle de insetos. In: _____. **Parasitologia Humana**. 10º ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. p. 292-306.

NOGUEIRA, N. F. S.; GONZALEZ, M.; GARCIA, E. M.; SOUZA, W. Effect of azadirachtin A on the fine structure of the midgut of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 69, p. 58-63, 1997.

PICOLLO, M. N. Avances em el monitoreo de resistência em Triatomínicos y necesidades futuras. In: RELCOT. **Monitoreo de la resistencia a insecticidas em Triatomínicos em América Latina**, 1º ed. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano, 2001. p. 13-21.

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.

REY, L. **Parasitologia**. 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731p.

RODRIGUES, A. M. de SOUZA. **Atividade de extratos vegetais do Cerrado sobre larvas de *Aedes aegypti* com ênfase em *Cybistax antisyphilitica***. 2004. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília.

ROJAS DE ARIAS, A.; FERRO, E.; INCHAUSTI, A.; ASCURRA, M.; ACOSTA, N.; RODRIGUEZ, E.; FOURNET, A. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, p. 35-41, 1995.

ROJAS DE ARIAS, A.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. The effects of *Melia azederach* on *Triatoma infestans* bugs. **Fitoterapia**, v. 59, p. 148-149, 1988.

ROZENDAAL, J. A. Vector control: methods for use by individuals and communities. **World Health Organization**, Geneva. 1997.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ROJAS DE ARIAS, A. A screening method for natural products on triatomine bugs. **Phytotherapy Research**, v. 6, p. 68-73, 1992.

SCHMIDT, J.; KLEFFMANN, T.; SCHAUB, G. A. Hydrophobic attachment of *Trypanosoma cruzi* to a superficial layer of the rectal cuticle in the bug *Triatoma infestans*. **Parasitology Research**, v. 84, p. 527-536, 1998.

SCHOFIELD, C. J. Overview: Biosystematics of the Reduviidae. In: SCHOFIELD, C. J.; DUJARDIN, J. P.; JURBERG, J. **Proceedings International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae**, 1º ed. Col. Santo Tomás: INDRE, 1996. p. 45-50.

SCHOFIELD, C. J. *Trypanosoma cruzi*: the vector-parasite paradox. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 535-544, 2000.

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.

SILVEIRA, A. C. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. **Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas**. 1º ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1999. p. 1161-1181.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, p. 3-59, 2002.

SOUSA, M. A. Morphobiological characterization of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 and its distinction from other trypanosomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 205-210, 1999.

SOUZA, H. B. W. T.; AMATO NETO, V.; BRAZ, L. M. A.; MOTTA, M. H. C. Estudo sobre a eventual influência da erva de Santa Maria na evolução e mortalidade de triatomíneos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.24, p. 183-184, 1991.

SPSS - STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCE. SPSS for windows, version 11.5. SPSS Corporation, Chicago, Illinois. 2003

SUNDARAM, K. M. S. Azadirachtin biopesticide: a review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behaviour and biological effects. **Journal of Environmental Science and Health**, v. B3, p. 913-948, 1996.

VALLADARES, G. R.; FERREYRA, D.; DEFAGO, M. T.; CARPINELLA, M. C.; PALÁCIOS, S. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. **Fitoterapia**, v. 70, p. 421-424, 1999.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. **Revista de Toxicología en Línea**, v. 3, p. 1-21, 2003.

VASSENA, C. V.; PICOLLO, M. I.; ZERBA, E. N. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 14, p. 51-55, 2000.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 1º ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 1999. p. 739-754.

VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. P. Doença de Chagas no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, p. 7-12, 2000.

WENIGER, B.; ROBLEDO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGÓN, R.; MUNOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 193-200, 2001.

WHO-World Health Organization. Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre triatomíneos. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 2, p. 29-32, 1994.

WHO-World Health Organization. **TDR Strategic direction: Chagas disease**, Geneva, 2002.

WIGGLESWORTH, V. B. **Insect Physiology**. 8º ed. New York: Chapman and Hall, 1984. 191 p.

WOOD, E.; LICASTRO, S. A. de; CASABÉ, N.; PICOLLO, M. I.; ALZOGARAY, R.; ZERBA, E. N. A new tactic for *Triatoma infestans* control: fabrics impregnated with beta-cypermethrin. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 6, p. 1-7, 1999.

ZACKS, M. A.; WEN, J. J.; VYATKINA, G.; BHATIA, V.; GARG, N. An overview of chagasic cardiomyopathy: pathogenic importance of oxidative stress. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, p. 695-715, 2005.

ZERBA, E. N. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. **Medicina**, v. 59, p. 41-46, 1999.

Tabela II – Informações etnobotânicas e registro no herbário da Universidade de Brasília das plantas avaliadas.

Família	Nome científico	Nome popular	Uso	Número do Herbário
Annonaceae	<i>Annona crassiflora</i> Mart.	Araticum-do-campo	Diarréia crônica	(UB) 3700
	<i>Cardiopetalum calophyllum</i> Schlttdl.	Imbirinha	Febre	(UB) 3703
	<i>Duguetia furfuracea</i> (A. St. Hil.) Benth & Hook	Araticum-seco	Reumatismo, dores de estômago	(UB) 3679
	<i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart.	Pimenta-do-campo	Problemas digestivos, inflamação, tônico, afrodisíaco	(UB) 3699
	<i>Xylopia emarginata</i> Mart.	Pindaíba d'água	bactericida	(UB) 3690
Apocynaceae	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart.	Peroba-gigante-do-cerrado	Antimalárica, antiinflamatória	(UB) 3692

	<i>Condylocarpon isthmicum</i> (Vell.) A. DC.	—	—	(UB) 3663
	<i>Hancornia pubescens</i> (Nees & Mart.) M. Arg.	Mangaba	Digestiva, hepática, fruto comestível	(UB) 3677
	<i>Himatanthus obovatus</i> (M. Arg.) Woodson	Tiborna	Câncer, herpes, verminoses	(UB) 3678
	<i>Peschiera affinis</i> var. <i>campestris</i> Rizzini	Jasmim-do- campo	—	(UB) 3717
Asteraceae	<i>Eremanthus glomerulatus</i> Less.	—	—	(UB) 3721
	<i>Eremanthus sphaerocephalus</i> (Baker) DC.	Vassoura	—	(UB) 3708
	<i>Piptocarpha macropoda</i> (DC.) Baker	Candeia	—	(UB) 3680
	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Less.) Baker	Paratudo	—	(UB) 3676

Bignoniaceae	<i>Anemopaegma arvense</i> Stellf. ex Souza	Catuaba	Tônico, afrodisíaco	(UB) 3691
	<i>Anemopaegma chamberlaynii</i> Bureau & K.Schum.	—	—	(UB) 3715
	<i>Arrabidaea florida</i> DC.	Cipó neve	—	(UB) 3714
	<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart.	Caroba-brava	Doenças venéreas	(UB) 3696
	<i>Tabebuia caraiba</i> Bureau	Ipê-amarelo	Expectorante, febre	(UB) 3701
Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aublet.) March.	Almecegueira- vermelha	Hemostático, balsâmico	(UB) 3689
	<i>Protium ovatum</i> Engl.	Breu-do-cerrado	Úlcera gangrenosa	(UB) 3694
Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> Sw. var. <i>lingua</i> (Camb.) Eichl.	Erva-de-lagarto	Febre, sífilis, antimicrobiana, picada de cobra	(UB) 3693

Magnoliaceae	<i>Talauma ovata</i> A. St. Hil.	Baguaçu	Anti-diabetes, febrífuga	(UB) 3738
Meliaceae	<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Açafroa	Adstringente, purgativa, febrífuga, abortiva, emética, antimalárica	(UB) 3712
	<i>Guarea kunthiana</i> A. Juss.	Jatuaúba	Antimalárica, dor de estômago	(UB) 3710
Monimiaceae	<i>Siparuna cujabana</i> A.DC.	Pau-limão	—	(UB) 3737
	<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Capitu	—	(UB) 3720
Rubiaceae	<i>Sabicea brasiliensis</i> Wernham	Sangue-de-Cristo	Frutos comestíveis	(UB) 3709
Sapindaceae	<i>Cupania vernalis</i> Camb.	Olho-de-cotia	Febre, tônico, antiinflamatório	(UB) 3695
	<i>Magonia pubescens</i> St. Hill.	Tingui	Piscicida	(UB) 3702

	<i>Matayba guianensis</i> Aublet.	Camboatá	Fruto comestível	(UB) 3697
	<i>Serjania lethalis</i> A. St. Hil.	Timbó	Analgésico, piscicida	(UB) 3716
Sapotaceae	<i>Chrysophyllum soboliferum</i> Rizzini	Fruta-de-tatu	Adstringente	(UB) 3733
	<i>Pouteria gardneri</i> (Mart. & Miq.) Baehni	Sapotinha	Fruto comestível	(UB) 3672
	<i>Pouteria ramiflora</i> Radlk.	Figo-do-Cerrado	Fruto comestível	(UB) 3671
	<i>Pouteria torta</i> Radlk	Guapeva	Fruto comestível	(UB) 3674
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> A. St. Hil.	Mata-barata	Inseticida, vermífuga, febrífuga, anti-sifilítica	(UB) 3724
Zingiberaceae	<i>Renealmia alpinia</i> (Rottb.) Maas	—	Náuseas e vômitos	(UB) 3719

Tabela III – Mortalidade de *R. milesi* topicamente tratados com os diferentes extratos.

Nome científico / Controle	Parte da planta utilizada	Solvente	Mortalidade (%)						
			24h	48h	72h	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	Madeira da raiz	Hexano	0	5	5	5	5	5	5
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	5	5
<i>Guarea guidonia</i>	Raiz	Hexano	20	35	35	45	45	55	75*
		Etanol	0	5	5	5	10	15	20*
	Caule	Hexano	15	15	20	25	25	30	30*
		Etanol	10	10	10	15	15	20	20*
	Folhas	Hexano	0	5	5	10	15	25	30*
<i>Guarea kunthiana</i>	Raiz	Hexano	0	5	5	5	5	5	5
		Etanol	0	0	5	10	15	20	25*
	Caule	Hexano	25	30	35	40	40	40	40*
		Etanol	10	15	15	20	20	20	20*
	Folhas	Etanol	5	5	5	5	5	5	5

<i>Simarouba versicolor</i>	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	5	10	15	35*
		Etanol	15	35	35	50	90	95	95*
	Fruto	Hexano	0	20	20	35	45	50	65*
		Etanol	5	20	20	30	65	75	80*
	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	5	5
		Etanol	5	10	15	20	25	35	50*
	Folhas	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Talauma ovata</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira do caule	Hexano	5	20	20	25	25	25	25*
		Etanol	0	0	0	0	0	5	10
Controle acetona			0	0	0	0	0	0	0
Controle etanol			0	0	0	0	0	0	0
Controle sem tratamento			0	0	0	0	0	0	0

*Estatisticamente significativo ($P < 0,05$; teste Q de Cochran) quando comparados aos controles.

Tabela IV – Mortalidade de *D. maxima* topicamente tratados com os diferentes extratos.

Nome científico / Controle	Parte da planta utilizada	Solvente	Mortalidade (%)						
			24h	48h	72h	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
<i>Anemopaegma arvense</i>	Caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Anemopaegma chaimberlaynii</i>	Caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Annona crassiflora</i>	Casca da raiz	Etanol	0	0	5	5	5	5	5
	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0	5	10	10
<i>Arrabidaea florida</i>	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Casca do caule	Etanol	0	5	5	5	5	5	5
	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Folha	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira do caule	Etano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cardiopetalum calophyllum</i>	Raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	5	5	10

<i>Chrysophyllum soboliferum</i>	Folha	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Condylocarpon isthmicum</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	5	5	5	5	5
	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cupania vernalis</i>	Raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cybistax antisyphilitica</i>	Folha	Etanol	5	10	10	15	15	15	15
<i>Duguetia furfuracea</i>	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eremanthus glomerulatus</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0

	Madeira do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	5
	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eremanthus sphaerocephalus</i>	Capítulo floral	Hexano	0	0	0	0	5	10	10
	Capítulo floral	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hancornia pubescens</i>	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Himatanthus obovatus</i>	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0	5	5	5
	Casca da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	5
	Folha	Etanol	0	0	0	0	0	0	10
	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	5

<i>Magonia pubescens</i>	Casca do caule	Etanol	5	5	5	5	5	15	15
<i>Matayba guianensis</i>	Madeira do caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Peschiera affinis</i>	Madeira do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	5
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Piptocarpha macropoda</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Piptocarpha rotundifolia</i>	Casca do caule	Hexano	0	0	0	0	0	5	5
	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	10	10	10	10	10
	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0	0	0	0

	Madeira da raiz	Hexano	0	0	5	5	10	10	10
<i>Pouteria gardneri</i>	Casca da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Folha	Hexano	0	0	5	5	5	5	5
	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Raiz	Etanol	5	5	5	5	10	15	15
<i>Pouteria ramiflora</i>	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pouteria torta</i>	Madeira do caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Protium heptaphyllum</i>	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Protium ovatum</i>	Raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Renealmia alpinia</i>	Folha	Hexano	5	5	5	5	5	5	5
<i>Sabicea brasiliensis</i>	Raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serjania lethalis</i>	Casca da raiz	Etanol	0	0	5	5	5	10	10
<i>Simarouba versicolor</i>	Casca do caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Casca da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0

	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	5	5
	Folha	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
	Fruto	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
	Fruto	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Siparuna cujabana</i>	Caule	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
<i>Siparuna guianensis</i>	Casca do caule	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tabebuia caraiba</i>	Casca da raiz	Etanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>Xylopia aromatica</i>	Folha	Etanol	0	0	0	0	0	5	5
<i>Xylopia emarginata</i>	Folha	Hexano	0	0	0	0	0	0	0
Controle acetona			0	0	0	0	0	0	0
Controle etanol			0	0	0	0	0	0	0
Controle sem tratamento			0	0	0	0	0	0	0

Capítulo II

Avaliação da atividade larvívica de extratos vegetais sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em laboratório

RESUMO

A dengue é uma doença viral transmitida, principalmente, pelo mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Nenhuma vacina ainda foi validada, portanto, o controle vetorial ainda é a melhor prevenção. No Brasil, os principais inseticidas utilizados são piretróides e organofosfatos, porém o seu constante uso leva frequentemente ao desenvolvimento de resistência. Por esse motivo, há necessidade de desenvolvimento de novos produtos com essa atividade. O presente estudo avaliou a ação larvicida de 68 extratos vegetais de plantas do Cerrado sobre *A. aegypti*. Cada extrato foi testado a uma concentração de 500 µg/mL: 10 mg de cada extrato foram dissolvidos em 0,2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 19,8 mL de água destilada, em placas de Petri. Para os extratos que levaram a uma mortalidade superior a 90%, novos testes em concentrações menores (250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62 µg/mL) foram realizados para a determinação da CL₅₀. Para cada amostra, dez larvas de 3º estágio foram testadas em triplicata. As larvas tratadas e o controle foram mantidos à temperatura de 28 ± 5°C, umidade relativa de 70 ± 5% e fotoperíodo de 12 horas. Os resultados foram registrados após 24h. Os extratos diclorometânico da folha de *Kielmeyera coriacea* e hexânico da madeira da raiz de *Duguetia furfuracea* foram os que apresentaram uma melhor atividade na concentração inicial testada. A CL₅₀ desses dois extratos foi determinada, sendo igual a 112,79 µg/mL para *K. coriacea* e 65,24 µg/mL para *D. furfuracea*. Estes dois extratos podem ser úteis na busca por novos compostos naturais inseticidas contra o mosquito *A. aegypti*.

Palavras-chave: mosquito da dengue, extratos vegetais, controle de insetos, *Duguetia furfuracea*, *Kielmeyera coriacea*

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença infecciosa, de origem viral, transmitida para o homem por meio da picada de fêmeas de mosquitos contaminadas pertencentes ao gênero *Aedes*. O principal vetor é o inseto *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), também vetor da febre amarela urbana, embora outras espécies como *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Aedes polynesiensis* Marks, 1951 possam estar envolvidas na transmissão (Guzmán & Kouri, 2001). Quatro sorotipos diferentes foram descritos, DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4, todos membros do gênero Flavivirus, pertencente à família Flaviviridae (Pugachev *et al.*, 2003).

A dengue e a dengue hemorrágica ocorrem em mais de 100 países diferentes (Figura 1), com uma estimativa anual de 50 milhões de infecções, além de mais de 2,5 bilhões de pessoas em risco de contaminação e 20 mil óbitos (WHO, 2002). Já foram reportados casos nas Américas, sul da Europa, África, Mediterrâneo oriental, Ásia, Austrália, além de ilhas no Oceano Índico, no sul e centro do Oceano Pacífico e no Caribe (Ligon, 2005).

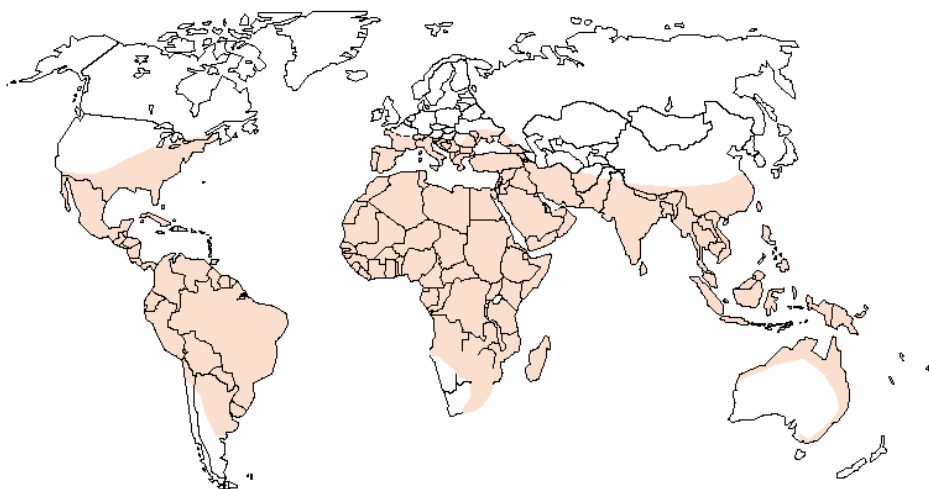


Figura 1. Distribuição potencial de *A. aegypti* (Guzmán & Kouri, 2001).

A grande distribuição mundial desta doença começou nos trópicos, durante os séculos XVIII e XIX, quando ocorreu uma expansão marítima da indústria e do comércio. Tanto o vetor quanto o arbovírus foram dispersos via navegação devido aos mosquitos utilizarem a água armazenada nos navios como local para reprodução, mantendo o ciclo de transmissão mesmo em longas viagens. Quando a embarcação aportava, geralmente os insetos e os vírus eram introduzidos na região. Por causa do modo lento de transporte, epidemias não eram freqüentes, ocorrendo com um intervalo de 10 a 40 anos (Gubler, 2002).

Contudo, entre a metade e o final do século vinte, a incidência da dengue no mundo moderno aumentou drasticamente devido a vários fatores, como o aumento de viagens aéreas em áreas endêmicas, mudanças climáticas, crescimento populacional descontrolado, falha no controle vetorial e o aumento de urbanização não planejada, resultando em cidades com alta densidade populacional e com sistemas inadequados de abastecimento de água e de limpeza urbana, além de intensa utilização de materiais não biodegradáveis, como recipientes descartáveis de plástico e vidro, gerando um excelente local para a reprodução dos mosquitos vetores (FUNASA, 2002a; Ligon, 2005).

O período de incubação da dengue é de três a 15 dias depois da picada. A infecção pelo vírus pode ser assintomática ou levar a uma febre clássica ou hemorrágica, afetando recém-nascidos, crianças, adolescentes e adultos. As características clínicas variam de acordo com a idade. Recém-nascidos e crianças jovens normalmente desenvolvem apenas uma enfermidade febril não específica, com manchas vermelhas difíceis de distinguir de outras viroses. Os casos mais severos geralmente ocorrem em crianças mais velhas e adultos. Esses casos são caracterizados por um rápido aumento na temperatura corpórea ($\geq 39^{\circ}\text{C}$) que dura por volta de cinco a seis dias, podendo ser bifásica. Durante o período

febril, o paciente pode apresentar dores no corpo, sensação de cansaço, falta de apetite, náuseas, vômitos, manchas vermelhas na pele, coceiras no corpo, dor de cabeça, mialgia e artralgia. Às vezes pode ocorrer petéquias, epistaxe e sangramento gengival, metrorragia, além de outras manifestações hemorrágicas. Embora a dengue possa ser incapacitante, o prognóstico é favorável e o paciente comumente se recupera após sete a dez dias do início da doença (Ministério da Saúde, 2002a; Guzmán & Kouri, 2004; Ligon, 2005).

Já a febre hemorrágica da dengue (FHD) costuma ser mais severa. Os sintomas iniciais são semelhantes ao da dengue clássica, porém as manifestações hemorrágicas e/ou choque evoluem mais rapidamente. Tipicamente, a FHD é caracterizada por febre alta, fenômenos hemorrágicos, hepatomegalia e insuficiência circulatória. Entre o terceiro e sétimo dia da doença pode ocorrer, nos casos graves, o choque, sendo decorrente do aumento da permeabilidade vascular seguido de hemoconcentração e falência circulatória. Por ser de curta duração, pode levar a uma recuperação rápida após terapia anti-choque ou ao óbito em 12 a 24 horas (FUNASA, 2002b; Ministério da Saúde, 2002b).

No Brasil, as condições socioambientais favoráveis possibilitaram uma grande dispersão de *A. aegypti* desde sua reintrodução em 1976 (Figura 2), que ainda hoje não pode ser totalmente controlada com os métodos tradicionalmente utilizados (FUNASA, 2002a).

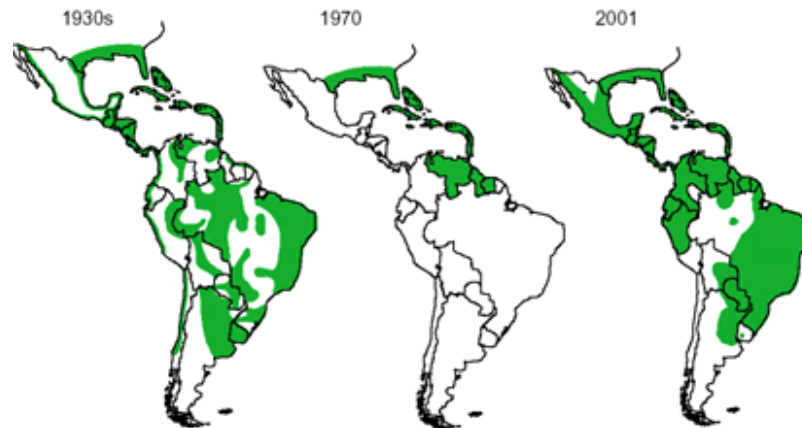


Figura 2. Reintrodução, no Brasil, de *A. aegypti* na década de 1970 (Gubler, 2002).

Logo, a ocorrência de dengue epidêmica no Brasil não é uma raridade e, desde 1986, vários estados brasileiros conviveram com grandes epidemias. Os casos reportados no Brasil no final da década de 1990 chegaram a apresentar 80% das notificações registradas nas Américas, sendo descritos em 24 estados mais o Distrito Federal (Schatzmayr, 2000). E em apenas três meses de 2002, somente no Estado do Rio de Janeiro, 166.393 casos foram notificados, sendo 1.408 de dengue hemorrágica, além de 53 óbitos (Lenzi & Coura, 2004). Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (2005), nos anos de 2004/2005, três sorotipos foram registrados no Brasil: DEN-1, DEN-2 e DEN-3 (Figura 3).

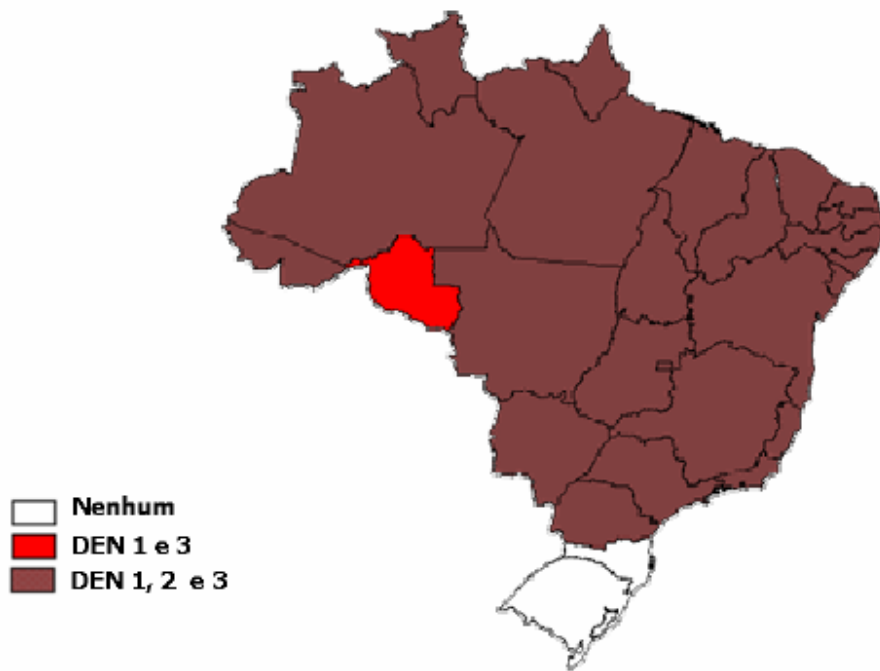


Figura 3. Sorotipos circulantes no Brasil 2004/2005 (Secretaria de Vigilância em Saúde, 2005).

Ainda segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (2005), 38.989 novos casos de dengue foram registrados nos primeiros meses de 2005, com sete casos confirmados de febre hemorrágica da dengue (FHD). Para o mesmo período, a região Sudeste notificou 5.148 casos, o Nordeste 10.480, o Centro-Oeste 5.987, o Norte 17.152 e o Sul 296 casos da doença, o menor índice brasileiro por região. Já no ano anterior, 112.918 casos foram relatados, sendo 81 de FHD com três óbitos, por conseguinte, uma taxa de letalidade de 3,7%.

Prevenção e tratamento

A prevenção da dengue consiste em três fatores básicos: controle vetorial, implementação de bons sistemas de vigilância e desenvolvimento de vacinas eficazes. O

controle vetorial é realizado pela eliminação de criadouros naturais e artificiais dos mosquitos, além da aplicação de inseticidas, tanto para as larvas quanto para os adultos. Pode-se, também, utilizar peixes e copépodos (crustáceos) como método de controle biológico (Ligon, 2005).

Atualmente, as vacinas para dengue estão em vários estágios de desenvolvimento, todavia, nenhuma delas foi validada para a utilização. Embora não exista uma terapia específica para essa doença, o tratamento sintomático apropriado pode reduzir a mortalidade a 1%, mas em países pobres e durante epidemias este índice sobe para 10% - 30% (Deen, 2004). Apesar da dengue ser caracterizada por uma recuperação espontânea, a dengue hemorrágica pode progredir para quatro graus de severidade diferentes quando não tratada apropriadamente com reposição de líquido intravascular, podendo resultar em um profundo choque (John, 2003; Chaturvedi, 2005).

Biologia do *Aedes aegypti*

Existem mais de 3000 espécies de mosquitos (Culicidae), sendo que pelo menos 100 delas transmitem doenças. Diferentes espécies que podem se alimentar tanto durante o dia quanto ao entardecer ou de noite (Rozendaal, 1997).

São conhecidas várias espécies dentro do gênero *Aedes* e *Ochlerotatus*, sendo vetores importantes para dengue, dengue hemorrágica, febre amarela, além de outras viroses (Rozendaal, 1997; Rueda, 2004).

Tanto o macho quanto a fêmea alimentam-se de néctar ou seiva vegetal, porém a fêmea, após o acasalamento, necessita de sangue para a maturação dos ovos. Elas são atraídas por odores corporais, dióxido de carbono e temperatura emitidos pelos animais. O intervalo entre o repasto e a oviposição é de dois a três dias, com igual período para a eclosão. Os ovos são depositados em recipientes naturais ou artificiais, preferencialmente

contendo água limpa, como vasos, latas, pneus, bambus e buracos em árvores. As larvas, em todos os quatro instares, possuem grande mobilidade e alimentam-se de detritos orgânicos, fungos, bactérias e protozoários existentes na água (Rozendaal, 1997).

Em intervalos de temperaturas de 25°C e 29°C e boa oferta alimentar, a duração da fase larvar, que compreende quatro instares, é de cinco a dez dias. A pupa também é dotada de mobilidade, com uma duração média de dois dias (Ussui & Barata, 2001). Ainda, as fêmeas podem transmitir para seus ovos o vírus da dengue, ocorrendo a eclosão de larvas infectadas (Ministério da Saúde, 2002a).

Controle químico e resistência

Os principais métodos de controle de *A. aegypti* são baseados na utilização de produtos químicos e biológicos, além da melhoria das condições de saneamento. No Brasil, os programas de combate aos mosquitos da dengue utilizam principalmente inseticidas químicos, como temefós (organofosfatos) e piretróides, em detrimento da melhoria das condições de saneamento (Lefevre *et al.*, 2003; Luna *et al.*, 2004).

O mecanismo de ação dos praguicidas varia dependendo da classe do mesmo. Os organoclorados podem aumentar a concentração de cálcio intracelular e a liberação de acetilcolina nos terminais pré-sinápticos, inibir a função do GABA (ácido gama aminobutírico), além de alterar, como os piretróides, a permeabilidade ao sódio na membrana do axônio impedindo a repolarização normal após um impulso nervoso. Os organofosfatos são inibidores irreversíveis da acetilcolinesterase, enquanto os carbamatos são inibidores reversíveis dessa enzima (Chambers & Carr, 1995).

Por causa do constante uso de inseticidas, o desenvolvimento de resistência é um processo que ocorre com muita frequência, pois morrem os indivíduos suscetíveis, sobrevivendo os resistentes e, conseqüentemente, aumentando a população dos últimos.

Além dos mecanismos de resistência que permitem aos dípteros sobreviverem após o contato direto com a substância tóxica, existe uma outra forma, na qual ocorre a seleção de indivíduos com aptidão parcial ou total para evitar o contato com doses letais, chamada resistência comportamental. Exatamente por esses motivos, existe a necessidade da mudança periódica dos pesticidas utilizados ou a substituição por métodos físicos e biológicos pelo maior tempo possível (Donalísio & Glasser, 2002).

Dois mecanismos principais estão envolvidos na resistência a pesticidas. O primeiro seria a alteração de determinados aminoácidos responsáveis pela ligação do inseticida ao seu sítio de ação, que no caso dos piretróides são os canais de sódio das células nervosas, principalmente. Isto dificulta a ligação e, conseqüentemente, diminui a eficácia do produto. O outro mecanismo seria o aumento na atividade de enzimas responsáveis pela desintoxicação do organismo do inseto, como esterases, monooxigenases e glutathione S-transferases (Flores *et al.*, 2001; Audino *et al.*, 2004).

Um fator importante para a desintoxicação de determinados inseticidas é a atividade de A-esterases dependentes de cálcio. A-esterases provavelmente são altamente significantes na baixa toxicidade de compostos como clorpirifós, dos quais os metabólitos ativos podem ser hidrolisados antes que concentrações tóxicas se acumulem no organismo (Chambers & Carr, 1995). Foi observado que esterases e glutathione s-transferases estão envolvidas na desintoxicação de piretróides, como bifetrina e cialotrina, em *Oligonychus pratensis* e *Tetranychus urticae*. Além disso, uma diminuição na sensibilidade da acetilcolinesterase também pode estar relacionada à resistência, principalmente em relação a organofosfatos e carbamatos (Yang *et al.*, 2001).

Os citocromos P-450 são uma superfamília de enzimas que catalisam desde reações endógenas envolvendo esteróides, ácidos graxos e colesterol até compostos exógenos,

como drogas e inseticidas. Essas enzimas são importantes na hidroxilação de vários pesticidas, como piretróides e organosfosforados, transformando-os em substâncias mais solúveis em água, permitindo uma melhor eliminação na urina, diminuindo, assim, sua toxicidade ao animal. Ainda, foi observado um aumento na transcrição de genes pertencentes às famílias CYP4, CYP6 e CYP9 em populações de diversos insetos resistentes (Hemingway & Ranson, 2000; Freitas *et al*, 2005).

As glutathione S-transferases participam de diversos processos, entre eles detoxificação de substâncias tóxicas e proteção contra estresse oxidativo. Elas ligam-se a grupamentos eletrofilicos conjugando uma molécula de glutathione reduzida que passará para o estado oxidado após a ligação, formando compostos mais solúveis e, conseqüentemente, mais fáceis de serem excretados. A resistência a inseticidas também pode ocorrer quando há uma alteração na seqüência ou na conformação de proteínas que normalmente se ligariam a estas substâncias, por exemplo, mutações no receptor do neurotransmissor GABA pode conferir resistência a ciclodienos, assim como mutações nos genes dos canais de sódio são responsáveis pela resistência a piretróides e DDT (Hemingway & Ranson, 2000; Freitas *et al*, 2005).

Já foi verificada a resistência em populações de *A. aegypti* de diversos estados brasileiros, como São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Paraná, Sergipe e Alagoas (Lima *et al.*, 2003; Macoris *et al.*, 2003; Braga, *et al.*, 2004; Luna *et al.*, 2004), assim como em outros países, por exemplo, Panamá e Cuba (Bisset *et al.*, 2003; Rodriguez *et al.*, 2004). Ainda, mais especificamente em relação ao temefós, o larvicida de mais ampla utilização, determinadas populações de *A. aegypti* de 20 municípios de várias regiões do Brasil apresentaram ampla resistência, excluindo-se apenas a região Sul (Donalísio & Glasser,

2002). Assim, existe a necessidade do desenvolvimento de compostos inseticidas seguros, que causem um mínimo impacto ambiental e com novos modos de ação (WHO, 2003).

Inseticidas de origem vegetal

Tradicionalmente, os inseticidas mais utilizados são os piretróides e os fosforados, seguidos dos organoclorados, entretanto, esses produtos eliminam, além das pestes, os insetos que são benéficos ao homem. Por isso, a busca de novos inseticidas de origem vegetal tem sido bastante estimulada, pois as plantas têm sido uma fonte enorme de compostos químicos com diversas atividades contra insetos, como repelente, fagoinibidora e inseticida (Vieira & Fernandes, 1999).

Trabalhos recentes têm demonstrado a eficácia de extratos brutos vegetais e seus compostos isolados em *A. aegypti*. Arruda *et al.* (2003) avaliaram a toxicidade do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* (Sapindaceae) em larvas de *A. aegypti* e verificaram que esse extrato induzia alterações, principalmente, no intestino médio. Tais alterações incluíam destruição total ou parcial das células, alta vacuolização citoplasmática, aumento do espaço subperitrófico e hipertrofia das células.

Seguindo o estudo com *M. pubescens*, Silva *et al.* (2004) fracionaram o mesmo extrato bruto obtendo nove frações. Dessas, as frações MP-7, MP-8 e MP-9 apresentaram atividade significativa. A MP-9 foi a mais ativa, com uma CL₅₀ de 3,1 ppm e CL₉₀ de 36,6 ppm. Os autores também isolaram a substância ativa da MP-9, caracterizando-a como um tanino catéquico.

Prajapati *et al.* (2005) avaliaram o efeito inibidor da oviposição, a atividade inseticida e repelente de óleos essenciais extraídos de dez plantas medicinais contra *A. aegypti*, concluindo que *Juniperus macropoda* e *Pimpinella anisum* foram altamente efetivas tanto como larvicidas quanto ovicidas. Ainda, foi verificado que o óleo essencial

de *Zingiber officinale* possui atividade ovicida, enquanto *Rosmarinus officinalis* e *Cinnamomum zeylanicum* possuem efeito repelente, sendo o último o que apresentou o mais alto valor repelente.

Sivagnaname & Kalyanasundaram (2004) analisaram o efeito do extrato metanólico de *Atlantia monophylla* (Rutaceae) em três espécies de mosquitos, *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), *Anopheles stephensi* Liston, 1901 (Diptera: Culicidae), e *A. aegypti*. Observaram um efeito larvicida mais pronunciado em *A. aegypti*, com CL₅₀ 0,09 mg/L e uma maior atividade pupicida em *A. stephensi*, com CL₅₀ 0,05 mg/L. Além disso, o extrato foi considerado seguro para três espécies de animais predadores testados, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae), *Poecilia reticulata* Peters, 1859 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) e *Diplonchus indicus* Venkatesan & Rao, 1980 (Hemiptera: Belostomatidae).

Wandscheer *et al.* (2004) compararam a atividade inseticida de extratos etanólicos do fruto de *Melia azedarach* e *Azadirachta indica* em duas temperaturas diferentes, 25°C e 30°C, contra larvas do mosquito da dengue. Ambos extratos apresentaram atividade larvicida significativa, apesar do extrato de *A. indica* ter sido, de forma geral, mais efetivo que o extrato de *M. azedarach*, nas condições testadas. A menor concentração letal (LC₅₀ 0,017 g%) foi verificada com *A. indica* a uma temperatura de 30°C.

Rodrigues *et al.* (2005) avaliaram, em *A. aegypti*, a atividade larvicida do extrato hexânico da madeira do caule de *Cybistax antisyphilitica* (Bignoniaceae), fracionando o extrato bruto até o isolamento da substância de maior eficácia, uma quinona identificada como 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1.4-naftoquinona (lapachol), com CL₅₀ 26,3 µg/mL.

Siddiqui *et al.* (2004) isolaram duas amidas, denominadas pipnoohine e pipyahyine, do extrato de éter de petróleo do fruto de *Piper nigrum* L. (Piperaceae) com atividade

inseticida em larvas do quarto ínstar do mosquito da dengue. A CL_{50} das duas substâncias foi, respectivamente, 35,0 e 30,0 ppm.

Cerrado

O Brasil possui a flora mais rica do mundo, quase 19% da flora mundial, com mais de 60 mil espécies de plantas. Dessas, 55 a 60 mil são angiospermas, 5-10 gimnospermas, 1,2 a 1,3 mil pteridófitos, cerca de 3,1 mil briófitas e 525 espécies de algas marinhas (Giulietti *et al.*, 2005). O Cerrado possui mais de 7 mil espécies de plantas, com 44% da flora endêmica. É o segundo maior bioma brasileiro, ocupando 21% do território nacional, com uma extensão original de aproximadamente 2 milhões de km^2 (Klink & Machado, 2005).

Entretanto, nos últimos 35 anos, cerca de metade da área original do Cerrado foi transformada em pastagens plantadas e culturas anuais. Somente as pastagens plantadas com gramíneas africanas ocupam uma área equivalente à área da Espanha, aproximadamente 500 mil km^2 , enquanto a área total destinada à conservação é de apenas 33 mil km^2 , claramente insuficiente para a preservação desse bioma. Além disso, estima-se que 20% das espécies endêmicas e ameaçadas não ocorram nas áreas legalmente protegidas. (Klink & Machado, 2005).

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas: Foram coletadas no entorno de Brasília, Distrito Federal, em 2002, 2003 e 2005, juntamente com o botânico Prof. Dr. José Elias de Paula do Laboratório de Anatomia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília. As exsiccatas estão depositadas no Herbário (UB) da Universidade de Brasília.

Preparação dos extratos: As diferentes espécies foram dessecadas, estabilizadas, pulverizadas e submetidas a um processo de extração por maceração com hexano (4 x 2 L) seguido de etanol 95% (4 x 2 L) ou com hexano (4 x 2 L), diclorometano (4 x 2 L) ou solução hidroalcoólica 80% (4 x 2 L). Os diferentes extratos brutos foram obtidos após evaporação dos solventes sob pressão reduzida a 40°C.

Insetos: Os ovos de *Aedes aegypti* foram eclodidos em uma bandeja com 3 L de água destilada acrescida de 40 mL de solução aquosa de alfafa. A eclosão ocorre em cerca de 24 horas, dando origem às larvas do mosquito. Estas foram criadas em água limpa, à temperatura de $28 \pm 5^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12 horas. Foram alimentadas com ração autoclavada, até atingirem o 3º estágio de desenvolvimento.

Bioensaio larvicida: Cada extrato foi testado com uma concentração de 500 µg/mL: 10 mg de cada extrato foram dissolvidos em 0,2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 19,8 mL de água destilada, em placas de Petri. Para os extratos que levaram a uma mortalidade superior a 90%, novos testes em concentrações menores (250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62 µg/mL) foram realizados para a determinação da CL_{50} . No controle foram utilizados DMSO e água. Para cada amostra, dez larvas de 3º estágio foram testadas em triplicata. As larvas tratadas e o controle foram mantidos sob as mesmas condições da criação. Os resultados foram registrados após 24h.

Critério de morte: Foram identificadas como mortas as larvas que não reagiram a estímulos mecânicos (estimulação por um pincel ou pinça).

Análise estatística: A análise Probit foi utilizada para a determinação da CL_{50} , utilizando-se o programa SPSS – versão 11.5 (SPSS, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados, em larvas do terceiro ínstar de *A. aegypti*, 68 extratos provenientes de 30 espécies vegetais diferentes.

Dos extratos analisados na concentração de 500 µg/mL (tabela I), dois, o hexânico da madeira da raiz de *Duguetia furfuracea* e o diclorometânico da folha de *Kielmeyera coriacea*, levaram a uma mortalidade média superior a 90% das larvas testadas. Verificou-se para *K. coriacea* uma CL₅₀ igual a 112,79 µg/mL e para *D. furfuracea* uma CL₅₀ de 65,24 µg/mL. Outros sete extratos apresentaram atividade inseticida interessante, com mortalidade média igual ou superior a 50%: hexânicos da casca do caule de *Talauma ovata*, madeira da raiz e folha de *Schinus terebinthifolius* e da casca da raiz de *Matayba guianensis*, etanólicos da casca e da madeira do caule de *Xylopia emarginata*, e diclorometânico da folha de *S. terebinthifolius*. O fato de cinco (56%) dos nove extratos ativos serem hexânicos não implica na existência de maiores probabilidades de se encontrar substâncias inseticidas neste tipo de preparação, visto que 32 (47%) dos 68 extratos testados foram macerados com este solvente.

O nível de atividade larvicida ($\geq 50\%$ de mortalidade a 500 µg/mL) apresentado pelos nove extratos justifica o interesse nas espécies em questão. O valor potencial de subprodutos destas espécies é ainda maior por ser possível realizar testes sistemáticos das combinações de diferentes métodos de extração e partes das plantas. Comparações com outros trabalhos que reportam CL₅₀ mais baixas que as dos dois extratos mais ativos (e.g. Ciccía *et al.*, 2000) devem considerar discrepâncias relativas a fase do desenvolvimento larval (Ciccía *et al.*, 2000), suscetibilidades das populações de mosquito (Macoris, 2002), tempo de exposição (Pelah *et al.*, 2002) e outros fatores.

Novos paradigmas de uso e produção de inseticidas, como no Manejo Integrado de Pragas (MIP), também podem alterar substancialmente o valor relativo de extratos vegetais com atividades moderadas associadas a características como degradabilidade, efeitos tóxicos indesejados, características do cultivo da espécie e mecanismos de ação.

Existem poucos bioensaios avaliando os extratos de *D. furfuracea*. Um dos mais recentes verificou que a CL₅₀ do extrato hexânico da casca da raiz foi de 6,6 µg/mL para formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Mesquita *et al.*, 2005). Além disso, existem dois estudos fitoquímicos, onde foram isolados flavonóides e sesquiterpenóides das folhas (Santos & Salatino, 2000; Carollo *et al.*; 2005).

K. coriacea é usada popularmente para o tratamento de esquistossomose, malária e infecção fúngica e bacteriana. Audi *et al.* (2002) verificaram que o extrato etanólico da folha dessa planta possui efeito ansiolítico significativo em ratos, apesar de não apresentar efeito antidepressivo. Os autores também sugerem, por prospecção fitoquímica, a presença de flavonóides, esteróides, triterpenóides e taninos.

Cortez *et al.* (1998) fracionaram o extrato diclorometânico das folhas e do caule de *K. coriacea*, isolando e identificando dez xantonas, dois triterpenos e um bifenil. Ainda no mesmo trabalho, os autores verificaram que quatro xantonas e o bifenil exibiram atividade antifúngica em *Cladosporium cucumerinum*, e outras duas xantonas inibiram o crescimento de *Candida albicans*.

Novamente, deve-se lembrar que os terpenos possuem uma ampla atividade inseticida conhecida (Viera & Fernandes, 1999; Viegas Júnior, 2003), podendo ser estas substâncias, pelo menos em parte, as responsáveis pela atividade larvicida observada.

Muitas meliacinas, triterpenóides com sabor amargo, também possuem atividade pesticida e uma das principais fontes dessas substâncias são plantas da família Meliaceae

(Viegas Júnior, 2003). Entre elas, as dos gêneros *Azadirachta*, *Melia* e *Trichilia* têm sido muito estudadas (Roel, 2001), inclusive, sendo verificada ação larvicida de extratos brutos ou moléculas isoladas das plantas *Azadirachta indica* e *Melia azedarach* em *A. aegypti* (Siddiqui *et al.*, 2000; Wandscheer *et al.*, 2004). Entretanto, as duas espécies dessa família utilizadas no presente estudo, *Guarea guidonia* e *Guarea kunthiana*, não demonstraram nenhuma atividade larvicida em *A. aegypti*, apesar de terem aumentado significativamente a taxa de mortalidade em *Rhodnius milesi*, discutido no capítulo anterior.

Por fim, como observado por Kao *et al.* (2001), extratos vegetais devem ser analisados também em conjunto, visto que existe a possibilidade de uma ação sinérgica ou aditiva interessante entre eles. Assim, estudos futuros poderiam verificar se tais efeitos existem entre os nove extratos ativos testados, pois o desenvolvimento de resistência é dificultado quando mais de um tipo de pesticida é utilizado ou quando há uma rotatividade dos mesmos (Flores *et al.*, 2001). Ainda, sugere-se que os extratos hexânico da madeira da raiz de *D. furfuracea* e diclorometânico da folha de *K. coriacea* sejam quimicamente fracionados e biomonitorados, isolando as substâncias ativas, pois podem ser úteis na busca por novos compostos naturais inseticidas, mais seletivos e biodegradáveis, sobre larvas do mosquito *A. aegypti*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, W.; OLIVEIRA, G. M. C.; SILVA, I. G. Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 17-25, 2003.

AUDI, E. A.; OTOBONE, F.; MARTINS, J. V. C.; CORTEZ, D. A. G. Preliminary evaluation of *Kielmeyera coriacea* leaves extract on the central nervous system. **Fitoterapia**, v. 73, p. 517-519, 2002.

AUDINO, P. G.; VASSENA, C.; BARRIOS, S.; ZERBA, E.; PICOLLO M. I. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 335-339, 2004.

BISSET, J. A.; RODRIGUEZ, M. M.; CÁCERES, L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos em 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 55, p. 191-195, 2003.

BRAGA, I. A.; LIMA, J. B. P.; 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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 199-203, 2004.

CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; SIQUEIRA, J. M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 647-649, 2005.

CHAMBER, J. E.; CARR, R. L. Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. **Toxicology**, v. 105, p. 291-304, 1995.

CHATURVEDI, U. C.; SHRIVASTAVA, R.; NAGAR, R. Dengue vaccines: Problems & prospects. **The Indian journal of medical research**, v. 121, p. 639-652, 2005.

CICCIA, G.; COUSSIO, J.; MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 185-189, 2000.

CORTEZ, D. A. G.; YOUNG, M. C. M.; MARSTON, A.; WOLFENDER, J. L.; HOSTETTMANN, K. Xanthones, triterpenes and a biphenyl from *Kielmeyera coriacea*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1367-1374, 1998.

DEEN, J. L. The challenge of dengue vaccine development and introduction. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, p. 1-3, 2004.

- DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, p. 259-272, 2002.
- FLORES A. E.; BADII, M. H.; PONCE, G. G. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. **Revista Salud Pública y Nutrición**, v. 2, p. 1-9, 2001.
- FREITAS, D. R. J.; POHL, P. C.; VAZ JUNIOR, I. S. Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato *Boophilus microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 109-117, 2005.
- FUNASA. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico**. 1º ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002b. 28 p.
- FUNASA. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. 1º ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002a. 34 p.
- GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G. L.; BERG, C. V. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 52-61, 2005.
- GUBLER, D. J. Epidemic dengue/ dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **Trends in Microbiology**, v. 10, p. 100-103, 2002.
- GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 33-42, 2001.
- GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue diagnosis, advances and challenges. **International Society for Infectious Diseases**, v. 8, p. 69-80, 2004.
- HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 371-391, 2000.
- JOHN, T. J. Dengue fever and dengue haemorrhagic fever. **The Lancet**, v. 361, p. 181-182, 2003.
- 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 Sciences**, v. 69, p. 1485-1496, 2001.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, p. 147-155, 2005.
- LEFEVRE, A. M. C., LEFEVRE, F., SCANDAR, S. A. S., YASUMARO, S., SAMPAIO, S. M. P. Representações dos agentes de combate ao *Aedes aegypti* sobre a estratégia de retirada do inseticida nas ações de controle do vetor. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 359-372, 2003.

LENZI, M. F.; COURA, L. C. Prevenção da dengue: a informação em foco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 343-350, 2004.

LIGON, B. L. Dengue fever and dengue hemorrhagic fever: a review of the history, transmission, treatment and prevention. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 16, p. 60-65, 2005.

LIMA, J. B. P.; CUNHA, M. P.; SILVA JÚNIOR, R. C.; GALARDO, A. K. R.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several Municipalities in the state of rio de janeiro and Espírito santo, brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, p. 329-333, 2003.

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. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 1-2, 2004.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V. C.; BRACCO, J. E. Resistance of *Aedes aegypti* from the State of São Paulo, Brazil, to Organophosphates Insecticides. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 703-708, 2003.

MACORIS, M. L. G. **Avaliação do nível de susceptibilidade de linhagens de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) aos inseticidas utilizados para seu controle.** 2002. 66 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MESQUITA, M. L.; DESRIVOT, J.; BORIES, C.; FOURNET, A.; PAULA, J. E.; GRELLIER, P.; ESPÍNDOLA, L. S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 783-787, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A Sociedade contra a Dengue**, 1º ed. Brasília: Editora MS, 2002a. 24 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue: Aspectos Epidemiológicos, Diagnóstico e Tratamento**, 1º ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002b. 20 p.

PELAH, D.; ABRAMOVICH, A.; WIESMAN, Z. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 407-409, 2002.

PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1749-1757, 2005.

PUGACHEV, K. V.; GUIRAKHOO, F.; TRENT, D. W.; MONATH, T. P. Traditional and novel approaches to flavivirus vaccines. **International Journal for Parasitology**, v. 33, p. 567-582, 2003.

RODRIGUES, A. M. S.; DE PAULA, J. E.; ROBLLOT, F.; FOURNET, A.; ESPÍNDOLA, L. S. Larvicidal activity of *Cybistax antisyphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. **Fitoterapia**, v. 76, p. 755-757, 2005.

RODRIGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; FERNANDEZ, D.; PEREZ, O. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 56, p. 54-60. 2004.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, p. 43-50, 2001.

ROZENDAAL, J. A. **Vector control: methods for use by individuals and communities**. Geneva, 1997. 398 p.

RUEDA, L. M. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue virus transmission. **Zootaxa**, v. 589, p. 1-60, 2004.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 55, p. 567-573, 2000.

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

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Dengue. **Boletim da Semana 14**, 2005. 13 p.

SIDDIQUI, B. S.; AFSHAN, F.; GHIASUDDIN; FAIZI, S.; NAQVI, S. N. H.; TARIQ, R. M. Two insecticidal tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 53, p. 371-376, 2000.

SIDDIQUI, B. S.; GULZAR, T.; MAHMOOD, A.; BEGUM, S.; KHAN, B.; AFSHAN, F. New insecticidal amides from petroleum ether extract of dried *Piper nigrum* L. whole fruits. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, p. 1349-1352, 2004.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M. G.; RODRIGUES FILHO, E.; 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, p. 396-399, 2004.

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

SPSS - STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCE. SPSS for windows, version 11.5. SPSS Corporation, Chicago, Illinois. 2003

USSUI, C. A.; BARATA, E. A. Doenças e vetores: dengue. **Sucen**. São Paulo, 2001. Disponível em: <<http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/index.htm>>. Acesso em: 04 set. 2005.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 1º ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 1999. p. 739-754.

WANDSCHEER, C. B.; DUQUE, J. E.; da SILVA, M. A. N.; FUKUYAMA, Y.; WOHLKE, J. L.; ADELMANN, J.; FONTANA, J. D. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. **Toxicon**, v. 44, p. 829-835, 2004.

WHO-World Health Organization. **Report on Insect Vectors and Human Health**, Geneva, 2003. 80 p.

WHO-World Health Organization. **TDR Strategic direction: Dengue**, Geneva, 2002. 4 p.

YANG, X.; ZHU, K. Y.; BUSCHMAN, L. L.; MARGOLIES, D. C. Comparative susceptibility and possible detoxification mechanisms for selected miticides in Banks grass mite and two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 25, p. 293-299, 2001.

Tabela I – Mortalidade de *A. aegypti* tratados com os diferentes extratos em uma concentração de 500 µg/mL.

Nome científico / Controle	Parte da planta utilizada	Solvente	Mortalidade (%) após 24h			
			Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média
<i>Anemopaegma chamberlaynii</i>	Caule	Hexano	50	50	20	40
<i>Arrabidaea florida</i>	Folha	Hexano	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0
<i>Aspidosperma tomentosa</i>	Folha	Diclorometano	0	10	10	6,7
		Hexano	0	0	0	0
		Hidroalcoólico	0	0	0	0
<i>Byrsonima crassa</i>	Folha	Diclorometano	0	0	0	0
		Hexano	10	10	0	6,7
<i>Calophyllum brasiliense</i>	Folha	Diclorometano	0	0	0	0
		Hexano	0	10	0	3,3
	Raiz	Hexano	0	0	0	0
<i>Cardiopetalum calophylloides</i>	Folha	Etanol	0	0	0	0

<i>Condylocarpon isthmicum</i>	Casca do caule	Etanol	0	0	0	0
	Madeira do caule	Etanol	0	0	0	0
<i>Cupania vernalis</i>	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0
<i>Duguetia furfuracea</i>	Madeira da raiz	Hexano	100	100	100	100
<i>Echinodorus macrophyllus</i>	Folha	Diclorometano	40	10	20	23
		Hidroalcoólica	10	10	10	10
<i>Enterolobium ellipticum</i>	Folha	Diclorometano	10	70	10	30
		Hexano	10	0	0	3,3
		Hidroalcoólica	0	0	0	0
<i>Guarea guidonia</i>	Caule	Hexano	10	0	0	3,3
		Etanol	0	0	0	0
	Folha	Etanol	0	10	10	6,7
	Raiz	Hexano	20	20	0	13,3
Etanol		10	0	0	3,3	
<i>Guarea kunthiana</i>	Caule	Hexano	10	0	10	6,7

		Etanol	0	0	0	0
	Folha	Hexano	0	0	0	0
	Fruto	Hexano	50	40	30	40
		Etanol	0	0	0	0
	Raiz	Etanol	10	0	0	3,3
<i>Kielmeyera coriacea</i>	Folha	Diclorometano	100	100	80	93,3
		Hexano	0	0	0	0
<i>Magonia pubescens</i>	Casca da raiz	Hexano	0	0	0	0
	Madeira da raiz	Hexano	20	10	10	13,3
<i>Matayba guianensis</i>	Casca da raiz	Hexano	60	40	60	53,3
<i>Palicourea rigida</i>	Folha	Diclorometano	0	0	10	3,3
		Hexano	0	0	0	0
<i>Pouteria gardneri</i>	Madeira da raiz	Etanol	0	0	0	0
	Raiz	Hexano	30	20	20	23,3
<i>Pouteria ramiflora</i>	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0

<i>Pouteria torta</i>	Madeira da raiz	Hexano	0	0	0	0
		Etanol	0	10	0	6,7
<i>Qualea grandiflora</i>	Folha	Diclorometano	0	0	0	0
		Hexano	0	20	20	13,3
	Madeira do caule	Hexano	0	0	0	0
<i>Renealnia alpinea</i>	Folha	Hexano	20	30	20	23,3
		Etanol	0	0	0	0
	Raiz	Hexano	0	0	0	0
<i>Sabicea brasiliensis</i>	Raiz	Hexano	0	0	0	0
		Etanol	0	0	0	0
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folha	Diclorometano	50	40	60	50
		Hexano	60	50	50	53,3
	Caule	Diclorometano	10	10	10	10
	Madeira da raiz	Hexano	60	50	50	53,3
<i>Siparuna cujabana</i>	Fruto	Etanol	0	0	0	0
	Raiz	Etanol	0	0	0	0

<i>Solanum licocarpum</i>	Folha	Hexano	10	10	20	13,3
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Folha	Diclorometano	0	0	0	0
		Hexano	0	0	0	0
<i>Tabebuia caraiba</i>	Madeira do caule	Diclorometano	20	30	50	33,3
<i>Talauma ovata</i>	Casca do caule	Hexano	60	50	50	53,3
		Etanol	0	0	0	0
	Madeira do caule	Hexano	30	40	60	43,3
		Etanol	0	0	0	0
<i>Xylopiya emarginata</i>	Casca do caule	Etanol	60	40	50	50
	Madeira do caule	Etanol	50	40	70	53,3
Controle DMSO 1%			0	0	0	0

CONCLUSÃO

Atualmente existem aproximadamente 120 milhões de pessoas nos países subdesenvolvidos das Américas em risco de contrair a tripanossomíase americana, principalmente na zona rural e pobre. Além disso, considera-se que cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em países expostos a Dengue. Como a principal forma de controle dessas duas doenças é o controle vetorial, foi verificada neste estudo a ação inseticida sobre imaturos de *R. milesi*, *D. maxima* e *A. aegypti*.

A partir dos resultados obtidos foi verificado que as plantas *Simarouba versicolor* e *Guarea guidonia* são promissoras como fontes de substâncias inseticidas em *R. milesi*, pois as taxas de mortalidade obtidas foram superiores a 70%. Da mesma forma, as plantas *Duguetia furfuracea* e *Kielmeyera coriacea* também são promissoras, pois, observaram-se taxas de mortalidade superiores a 90% para dois extratos dessas espécies testados em *A. aegypti*. Assim, caso as substâncias isoladas apresentem baixa toxicidade para organismos não alvos e tenham sucesso em estudos de campo, poderão ser de grande valia para o controle dos vetores da Doença de Chagas e da Dengue.

Além disso, é importante ressaltar que a partir dos resultados obtidos pode-se verificar a importância do estudo da etnobotânica e da preservação do conhecimento popular acerca das plantas medicinais para a busca por novas substâncias de origem vegetal, pois das 38 espécies testadas, *S. versicolor*, a única planta no estudo tradicionalmente utilizada como pesticida, foi também a que apresentou melhor atividade inseticida em *R. milesi*, além de inibir a ecdise em *D. maxima*. Assim, os resultados

corroboram as pesquisas que indicam a abordagem etnofarmacológica como a mais eficaz na investigação por novos compostos ativos em relação à abordagem randômica ou, até mesmo, quimiotaxonômica.

ANEXO

Manuscrito publicado no periódico

“Neotropical Entomology”

PUBLIC HEALTH

Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions

ANDRÉ A.M. COELHO¹, JOSÉ E. DE PAULA² AND LAILA S. ESPÍNDOLA^{1,3}

¹Lab. Farmacognosia, Faculdade de Ciências da Saúde; ²Lab. Anatomia Vegetal, Depto. Botânica, Univ. Brasília 70910-900, Brasília DF; ³darvenne@unb.br

Neotropical Entomology 35(1):133-138 (2006)

Atividade Inseticida de Extratos de Plantas do Cerrado em *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), em Condições de Laboratório

RESUMO - A transmissão da doença de Chagas ocorre, principalmente, por meio de fezes de hemípteros hematófagos (Triatominae), os quais ingerem *Trypanosoma cruzi* ao se alimentarem do sangue de pessoas ou animais infectados. Para o controle dos triatomíneos, os piretróides são os principais inseticidas utilizados. Entretanto, algumas populações de insetos demonstraram resistência a determinados piretróides, indicando a necessidade do desenvolvimento de novos inseticidas eficazes no controle desses vetores. Assim, foi avaliada a atividade inseticida de 24 extratos vegetais em ninfas do quarto estágio de *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg, em condições de laboratório. Para o teste tópico, foram aplicados 50 µg de cada extrato nos tergitos abdominais de dez ninfas, em duplicata. Como controles, foram utilizados insetos tratados com etanol, acetona ou sem nenhum tipo de tratamento. Os triatomíneos foram observados durante 28 dias. Extratos hexânicos e etanólicos de *Simarouba versicolor*, *Guarea kunthiana*, *Guarea guidonia* e *Talauma ovata* causaram mortalidade entre 20% e 95% de *R. milesi* em comparação com os controles, onde não houve mortalidade dos insetos. Estes dados preliminares sugerem que o extrato etanólico da casca da raiz de *S. versicolor* e o extrato hexânico da raiz de *G. guidonia*, os quais foram responsáveis pela mortalidade de 95% e 75%, respectivamente, devem ser quimicamente investigados e monitorados por ensaios biológicos a fim de determinar seus componentes inseticidas, a serem utilizados como modelos moleculares ou como compostos biorracionais nos programas de controle de insetos.

PALAVRAS-CHAVE: Triatominae, extrato vegetal, controle de insetos, *Simarouba versicolor*, *Guarea guidonia*

ABSTRACT - Chagas' disease is chiefly transmitted by feces of haematophagous bugs (Triatominae) that ingested *Trypanosoma cruzi* from blood of infected people or animals. Pyrethroids have been the main insecticides used against these insects. However, some populations of insects have shown significant levels of resistance to several pyrethroids, indicating the need of new insecticides for the control of triatomines. Insecticidal activity of 24 Cerrado plant extracts belonging to five species of four families were assayed on fourth instar nymphs of *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. For the extract application on triatomines, 50 µg of the extract were topically applied in duplicate on dorsal tergites of ten insects. Insects topically treated with acetone, ethanol, as well as insects with no treatment were used as controls. Triatomines were observed over a 28-day period. Hexanic and ethanolic extracts of *Simarouba versicolor*, *Guarea kunthiana*, *Guarea guidonia* and *Talauma ovata* caused mortality between 20% and 95% of *R. milesi* in comparison with the controls, which showed no insect mortality. These preliminary data suggest that the ethanolic extract of the root bark of *S. versicolor* and the hexanic extract of the root of *G. guidonia*, responsible for a 95% and 75% insect mortality, respectively, should be chemically investigated and monitored through biological assays in order to determine their insecticidal components, that could be used as a molecular model or as biorational compounds for use in insect control programmes.

KEY WORDS: Triatomine bug, crude extract, insect control, *Simarouba versicolor*, *Guarea guidonia*

Chagas' disease, also known as American Trypanosomiasis, is caused by the flagellated protozoan *Trypanosoma cruzi* Chagas and its transmission to vertebrate hosts is carried out by haematophagous insects, from the Triatominae subfamily, through feces contamination via mucosa or skin wounds. It is a chronic debilitating illness that is highly prevalent in Latin America and ranges from Mexico to southern Argentina (WHO 2002). Transmission through blood transfusions, orally, congenitally or by organ transplants is also possible (Miles *et al.* 2003).

In the absence of vaccines and drugs suitable for the treatment of Chagas' disease, the most important control strategy is prevention. Control of the disease is based on two main strategies: interrupting transmission by the vector, and systematic screening of blood donors in all endemic countries, as established by a World Health Assembly resolution (WHO 2002).

Despite the low resistance exhibited by triatomine bugs to insecticides when compared with mosquitoes (Flores *et al.* 2001), some populations of *Rhodnius prolixus* Stål from Venezuela, and *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae) from Brazil (Zerba 1999, Vassena *et al.* 2000, Picollo 2001, Vassena & Picollo 2003), and Argentina (Zerba 1999, Picollo 2001, Vassena & Picollo 2003, Audino *et al.* 2004) have shown significant levels of resistance to deltamethrin and other pyrethroids used in the control of Chagas' disease vectors. Thus, the development of new insecticides from plant extracts sources can be an alternative for the control of triatomine bugs.

Moreover, the indiscriminate use of synthetic insecticides has caused environmental contamination and toxicity to living organisms (Raizada *et al.* 2001, Abdollahi *et al.* 2004, Nakata *et al.* 2005), indicating the need for the development of products that are not hazardous to the environment. Furthermore, the principal effects of acute or subchronic exposure to pyrethroids observed in mammals are also indicative of neurotoxicity (Soderlund *et al.* 2002, Kolaczinski & Curtis 2004, Shafer *et al.* 2005).

Plants produce secondary metabolites acting as defense mechanisms that can be used in pest control. These insecticidal substances can affect the feeding behavior and growth regulators, disrupting the endocrinological balance of the insects (Balandrin *et al.* 1985). An example is

azadirachtin, a biopesticide obtained from the neem tree (*Azadirachta indica*), which could be readily biodegradable, selective, non-mutagenic, with low toxicity to mammalian, causing minimal effects on the environment (Sundaram 1996, Gupta 2004).

Several studies have shown insecticidal activity of plants extracts against triatomine bugs: *Salvia cardiophylla*, *Annona reticulada*, *Neurolaena lobata*, *Tagetes minuta*, *Erythroxylon tortuosum*, *Cassia* sp., *Senna occidentalis*, *Cabrlea canjerana* elicited an increase in the mortality rate (16% to 52%) of *Rhodnius neglectus* Lent (Schmeda-Hirschmann & Rojas de Arias 1992); *Achyrocline satureioides* killed 45% of *T. infestans* which were topically treated (Rojas de Arias *et al.* 1995); *Coriandrum sativum*, *Chenopodium ambrosioides*, *Pimpinella anisum*, *Tagetes pusilla*, *Mentha arvensis*, *Satureja* sp., *Foeniculum vulgare*, *Chrysanthemum parthenium*, *Hedeoma mandoniana*, *Eucalyptus globulus* showed insecticidal activity on *T. infestans* (Laurent *et al.* 1997); and *Minthostachys andina* showed insecticidal properties on *T. infestans* and *R. neglectus* (Fournet *et al.* 1996). These studies are important for the development of new plant substances against Chagas' disease vectors. The diversity flora of Brazilian Cerrado, the country's second most important biome, has been poorly studied to evaluate the efficacy and therapeutic effects of crude extracts or isolated compounds (Espindola *et al.* 2004, Napolitano *et al.* 2005, Mesquita *et al.* 2005). In this sense, the aim of our study was to investigate the insecticidal activity of 24 plant crude extracts on fourth instar *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg nymphs.

Materials and Methods

Plant material. Plants were collected in Brasília, the Federal District of Brazil, in 2002/2003. Botanical identification was performed by Professor José Elias de Paula of the Plant Anatomy Laboratory, Institute of Biology, University of Brasília. The botanic specimens vouchers are deposited at the Herbarium (UB) of the same institution (Table 1).

Preparation of extracts. The air-dried and powdered parts of the plants were submitted first to exhaustive extractions with hexane (4 x 2 L), and successively with 95% ethanol

Table 1. Botanic voucher specimens and ethnobotanical information of the plants used in our experiments.

Plant family	Scientific name	Common name	Uses	Voucher number
Apocynaceae	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart.	Peroba-gigante-do-cerrado	Antimalaric, anti-inflammatory	(UB) 3692
Magnoliaceae	<i>Talauma ovata</i> A. St. Hil.	Baguaçu	Antidiabetic, febrifuge	(UB) 3738
Meliaceae	<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Açafroa	Astringent, purgative, febrifuge, abortive, emetic, anti-inflammatory	(UB) 3712
	<i>Guarea kunthiana</i> A. Juss.	Jatuaúba	Antimalaric, stomachache	(UB) 3710
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> A. St. Hil.	Mata-barata	Insecticide, vermifuge, febrifuge, antisyphilitic	(UB) 3724

(4 x 2 L) through a maceration process. The crude extracts were obtained after the evaporation of the solvents under reduced pressure at 40°C.

Insects. Fourth instar nymphs of *R. milesi* from an asynchronous laboratory colony were fed to repletion on chickens. After 24h, individual insects were treated topically with a Gilson® 0.5–10 µl pipette, containing an aliquot of each one of the test extracts. The insects were maintained at 28°C under 60–70% relative humidity.

Topical test. A stock solution containing 50 mg of extract per ml of solvent was prepared for each sample, and 1 µl of the solution was applied directly on the abdominal tergites of ten fourth instar nymphs of *R. milesi*. The experiment was carried out in duplicate. The hexane extracts were dissolved in acetone, while the ethanolic extracts were dissolved in 95% ethanol. Three types of controls were used: insects topically treated with acetone, insects topically treated with ethanol, and insects with no treatment. The test and control insects were observed daily for 28 days, under the same conditions of temperature and humidity described above, without feeding.

Statistical analysis. The Cochran test was used to test the statistically significant differences between the treatments and the controls (Bisquerra *et al.* 2004).

Results and Discussion

Twenty four hexanic and ethanolic extracts of Cerrado plants belonging to five species of four families were assayed on fourth instar *R. milesi* nymphs. The topical application test on fourth instar nymphs is recommended by WHO (1994).

Table 2 shows that the crude extracts of *Simarouba versicolor* (root bark hexane and ethanol; stem bark ethanol; fruit hexane and ethanol), *Guarea kunthiana* (root ethanol; stem hexane and ethanol), *Guarea guidonia* (root hexane and ethanol; stem hexane and ethanol; leaves hexane) and *Talauma ovata* (stem wood hexane) caused a mortality rate between 20% and 95% ($P < 0.05$; Cochran test) of *R. milesi* in comparison with the controls, which showed no insect mortality. Significant differences were found among different plant parts of the same species. Among the 14 active extracts, seven were ethanolic and seven were hexane. However, the polarity of the substances contained in the hexanic and ethanolic extracts presented different activity rates, for example, with the root bark of *S. versicolor* the mortality rate was 35% for hexane and 95% for ethanol, and with the root of *G. guidonia* the mortality rate was 75% for hexane and 20% for ethanol. The different extracts of *S. versicolor*, and of *G. guidonia* were the most active, showing a good insecticidal activity when topically tested, producing better results than those reported in the literature (Rojas de Arias & Schmeda-Hirschmann 1988, Fournet *et al.* 1996, Laurent *et al.* 1997).

When the extracts were compared at different exposure

times, significant differences were observed. The evaluation of the mortality rates (Table 2) shows extracts with rapid and slow activity on the insects. For the species *S. versicolor*, the ethanolic root bark extract killed practically all the insects of the sample with activity gradually increasing over time, killing 15% of the insects after 24h, 35% after 48h/72h, 50% in seven days, 90% in 14 days, and 95% of the insects in 21 days, remaining at this level until the 28th day of contact. This gradual increase in the mortality rate may represent a desired feature, since reinfestation of sprayed houses can be a major problem caused by lack of sufficient residual effect of insecticides (Schofield & Dias 1991, Moncayo 2003). The hexanic extract of the same plant part presented lower and lesser intense activity, causing mortality in 5% only after seven days of contact, reaching 35% after 28 days of treatment. The fruit of the same species presented a gradual increase in the mortality rate for the extracts of different polarities. The ethanolic extract presented a 35% increase in mortality between the 7th and 14th day of contact, while the hexanic extract increased this rate by only 10%. The stem bark presented activity only for the ethanolic extract, gradually increasing mortality from 5% to 50% between the first and the last day of treatment.

The hexanic stem wood extract of *T. ovata* presented less intense but more rapid activity, with 20% mortality after 48h, maintaining this rate until the 28th day. However, the hexanic stem extract of *G. kunthiana* presented the most rapid activity since it killed 25% of the bugs 24h after the application, and 40% after seven days; but this percentage did not increase for the remainder of the experiment. If we were to compare the hexanic root extract of the two species of *Guarea*, *G. kunthiana* and *G. guidonia*, only the latter was active, with a mortality rate of 75% after 28 days of application, thus demonstrating different sensitivities to these compounds. The evaluation of the three extracts of *Aspidosperma macrocarpon* did not show any insecticidal activity.

S. versicolor is traditionally regarded as having some insecticidal effect. *S. versicolor* is also used as a vermifuge, stimulant, febrifuge and antisyphilitic (Balbach 1995). Arriaga *et al.* (2002) isolated quassinoids, triterpenoids, a mixture of steroids, the flavonoid kaempferol, and a squalene derivative from *S. versicolor*. The medicinal use of this plant is attributed to the presence of quassinoids, which give an extremely bitter taste to all plant parts (Lorenzi & Abreu Matos 2002). Triterpenoids are known to possess insect antifeedant growth regulating activity against a variety of agricultural pests. Quassinoids, as modified triterpenoids, can be expected to show similar activity. Furthermore, quassinoids isolated from the seeds and bark of *Samadera indica* (Simaroubaceae), have been described as altering the insect tobacco cutworm feeding behavior and growth regulation (Govindachari *et al.* 2001), as well as the methanol extract of the aerial parts of *Quassia* sp. aff. *bidwillii* (Simaroubaceae) with lethal activity against the two-spotted spider mite, peach/potato aphid and the root knot nematode (Latif *et al.* 2000).

The presence of sesquiterpenes, limonoid and coumarin from the stem bark of *G. guidonia* has been demonstrated

Table 2. Mortality rate of *R. milesi* when topically applied with extracts (n = 20).

Species / control	Plant part used	Solvent	Mortality rate (%)						
			24h	48h	72h	7 days	14 days	21 days	28 days
<i>A. macrocarpon</i>	Root wood	Hexane	0	5	5	5	5	5	5
		Ethanol	0	0	0	0	0	0	0
<i>G. guidonia</i>	Root bark	Hexane	0	0	0	0	0	5	5
		Hexane	20	35	35	45	45	55	75 ¹
	Stem	Hexane	15	15	20	25	25	30	30 ¹
		Ethanol	10	10	10	15	15	20	20 ¹
<i>G. kunthiana</i>	Leaves	Hexane	0	5	5	10	15	25	30 ¹
		Hexane	0	5	5	5	5	5	5
	Root	Ethanol	0	0	5	10	15	20	25 ¹
		Hexane	25	30	35	40	40	40	40 ¹
<i>S. versicolor</i>	Stem	Ethanol	10	15	15	20	20	20	20 ¹
		Ethanol	5	5	5	5	5	5	5
	Root bark	Hexane	0	0	0	5	10	15	35 ¹
		Ethanol	15	35	35	50	90	95	95 ¹
<i>T. ovata</i>	Fruits	Hexane	0	20	20	35	45	50	65 ¹
		Ethanol	5	20	20	30	65	75	80 ¹
	Stem bark	Hexane	0	0	0	0	0	5	5
		Ethanol	5	10	15	20	25	35	50 ¹
Acetone control	Leaves	Hexane	0	0	0	0	0	0	0
		Hexane	0	0	0	0	0	0	0
	Stem bark	Hexane	0	0	0	0	0	0	0
		Hexane	0	0	0	0	0	0	0
Control with no treatment	Leaves	Hexane	0	0	0	0	0	0	0
		Hexane	0	0	0	0	0	0	0
Ethanol control	Stem wood	Hexane	5	20	20	25	25	25	25 ¹
		Ethanol	0	0	0	0	0	5	10
Acetone control			0	0	0	0	0	0	0
Control with no treatment			0	0	0	0	0	0	0
Ethanol control			0	0	0	0	0	0	0

¹Statistically significant ($P < 0.05$; Cochran test) when compared with controls.

(Garcez *et al.* 1998). The methanolic extracts and the oil of leaves of *G. guidonia* showed the presence of terpenoids (Lago *et al.* 2002). However, our study revealed significant activity for the hexanic root extract of this species.

These preliminary data suggest that the ethanolic extract of the root bark of *S. versicolor* and the hexanic extract of the root of *G. guidonia* should be further investigated in order to establish their standard chemical composition and to identify the insecticidal components by monitoring bioassays, so that they may be used as a molecular model for a potential insecticide, or recommended as biorational compounds for use in insect control programmes.

Acknowledgments

We thank Prof. Antônio Teixeira for supplying the insects used.

References

- Abdollahi, M., A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar & A. Rezaie. 2004. Pesticides and oxidative stress: A review. *Med. Sci. Monit.* 10: 141-147.
- Arriaga, A.M.C., A.C. Mesquita, Y.B.M. Pouliquen, R.A. Lima, S.H. Cavalcante, M.G. Carvalho, J.A. Siqueira,

- L.V. Alegrio & R. Braz Filho. 2002. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. An. Acad. Bras. Cienc. 74: 415-424.
- Audino, P.G., C. Vassena, S. Barrios, E. Zerba & M.I. Picollo. 2004. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 99: 335-339.
- Balandrin, M.F., J.A. Klocke, E.S. Wurtele & W.H. Bollinger. 1985. Natural plant chemicals: Source of industrial and medicinal materials. Science 228: 1154-1160.
- Balbach, A. 1995. As plantas curam. São Paulo, Edições Vida Plena, 415p.
- Bisqueria, R., J.C. Sarriera & F. Martínez. 2004. Introdução à estatística: Enfoque informático com o pacote estatístico SPSS. São Paulo, Artmed Editora S.A, 256p.
- Espindola, L.S., J.R. Vasconcelos Jr., M.L. de Mesquita, P. Marquié, J.E. de Paula, L. Mambu & J.M. Santana 2004. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. *lingua*. Planta Med. 70: 1093-1095.
- Flores, A.E., M.H. Badii & G.G. Ponce. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. Respyn 2: 1-9.
- Fournet, A., A. Rojas de Arias, B. Charles & J. Bruneton. 1996. Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas' disease vectors. J. Ethnopharmacol. 52: 145-149.
- Garcez, F.R., C.V. Núñez, W.S. Garcez, R.M. Almeida & N.F. Roque. 1998. Sesquiterpenes, limonoid and coumarin from the wood bark of *Guarea guidonia*. Planta Med. 64: 79-80.
- Govindachari, T.R., G.N.K. Kumari, G. Gopalakrishnan, G. Suresh, S.D. Wesley & T. Sreelatha. 2001. Insect antifeedant and growth regulating activities of quassinoids from *Samadera indica*. Fitoterapia 72: 568-571.
- Gupta, P.K. 2004. Pesticide exposure – Indian scene. Toxicology 198: 83-90.
- Kolaczinski, J.H. & C.F. Curtis. 2004. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroids insecticides: A review of the debate. Food. Chem. Toxicol. 42: 697-706.
- Lago, J.H.G., C.B. Brochini & N.F. Roque. 2002. Terpenoids from *Guarea guidonia*. Phytochemistry 60: 333-338.
- Latif, Z., L. Craven, T.G. Hartley, B.R. Kemp, J. Potter, M.J. Rice, R.D. Waigh & P.G. Waterman. 2000. An insecticidal quassinoid from the new Australian species *Quassia* sp. aff. *bidwillii*. Biochem. Syst. Ecol. 28: 183-184.
- Laurent, D., L.A. Vilaseca, J.M. Chantraine, C. Ballivian, G. Saavedra & R. Ibanez. 1997. Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. Phytother. Res. 11: 285-290.
- Lorenzi, H. & F.J. Abreu Matos. 2002. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 544p.
- Mesquita, M.L., P. Grellier, A. Blond, J.P. Brouard, J.E. de Paula, L.S. Espindola & L. Mambu. 2005. New ether diglycosides from *Matayba guianensis* with antiplasmodial activity. Bioorg. Med. Chem. 13: 4499-4506.
- Miles, M.A., M.D. Feliciangeli & A. Rojas de Arias. 2003. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. British Med. J. 326: 1444-1448.
- Moncayo, A. 2003. Chagas disease: Current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 98: 577-91.
- Nakata, H., Y. Hirakawa, M. Kawazo, T. Nakabo, K. Arizono, S.I. Abe, T. Kitano, H. Shimada, I. Watanabe, W. Li & X. Ding. 2005. Concentrations and compositions of organochlorine contaminants in sediments, soils, crustaceans, fishes and birds collected from Lake Tai, Hangzhou Bay and Shanghai city region, China. Environ. Pollut. 133: 415-429.
- Napolitano, D.R., J.R. Mineo, M.A. Souza, J.E. de Paula, L.S. Espindola & F.S. Espindola. 2005. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. J. Ethnopharmacol. 99: 37-41.
- Piccolo, M.N. 2001. Avances em el monitoreo de resistencia em Triatomínicos y necesidades futuras, p. 13-21. In Relcot, monitoreo de la resistencia a insecticidas em triatomínicos em América Latina. Buenos Aires, Fundación Mundo Sano, 68p.
- Raizada, R.B., M.K. Srivastava, R.A. Kaushal & R.P. Singh. 2001. Azadirachtin, a neem biopesticide: Subchronic toxicity assessment in rats. Food. Chem. Toxicol. 39: 477-483.
- Rojas de Arias, A., E. Ferro, A. Inchausti, M. Ascurra, N. Acosta, E. Rodriguez & A. Fournet. 1995. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. J. Ethnopharmacol. 45: 35-41.
- Rojas de Arias, A. & G. Schmeda-Hirschmann. 1988. The effects of *Melia azederach* on *Triatoma infestans* bugs. Fitoterapia LIX: 148-149.
- Schmeda-Hirschmann, G. & A. Rojas de Arias. 1992. A screening method for natural products on triatomine bugs. Phytother. Res. 6: 68-73.
- Schofield, C.J. & J.C.P. Dias. 1991. A cost benefit analysis of Chagas' disease control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 86: 285-295.
- Shafer, T.J., D.A. Meyer & K.M. Crofton. 2005. Developmental neurotoxicity of pyrethroids insecticides: Critical review and future research needs. Environ. Health. Perspect. 113: 123-136.

- Soderlund, D.M., J.M. Clark, L.P. Sheets, L.S. Mullin, V.J. Piccirillo, D. Sargent, J.T. Stevens & M.L. Weiner. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: Implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 171: 3-59.
- Sundaram, K.M.S. 1996. Azadirachtin biopesticide: A review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behaviour and biological effects. *J. Environ. Sci. Health*. B31: 913-948.
- Vassena, C.V. & M.I. Picollo. 2003. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. *Retel* 3: 1-21.
- Vassena, C.V., M.I. Picollo & E.N. Zerba. 2000. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med. Vet. Entomol.* 14: 51-55.
- WHO-World Health Organization. 1994. Protocolo de evaluación de efecto insecticida contra triatominos. Taller sobre la evaluación de efecto insecticida contra triatominos. WHO, Buenos Aires.
- WHO-World Health Organization. 2002. TDR Strategic direction: Chagas disease. Geneva, TDR, 6p.
- Zerba, E.N. 1999. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. *Medicina* 59: 41-46.

Received 20/VII/05. Accepted 17/01/06.
