

Estudo físico-químico e avaliação do potencial larvicida do extrato etanólico das cascas do caule de *Licania macrophylla* Benth

Ryan da Silva Ramos^{1*}, Alex Bruno Lobato Rodrigues¹, Gerson Anderson de Carvalho Lopes¹, Josivan da Silva Costa¹, Cleydson Breno Rodrigues dos Santos¹, Roberto Messias Bezerra², Raimundo Nonato Picanço Souto³, Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida¹

1. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica-Universidade Federal do Amapá-Rodovia Juscelino Kubistichck, Km-02. Jardim Marco Zero-CEP:68.902-280 – Macapá-AP, Brasil.*email: ryanquimico@hotmail.com

2. Laboratório de Bioprospeção e Absorção Atômica - Universidade Federal do Amapá - Rodovia Juscelino Kubistichck, Km-02. Jardim Marco Zero-CEP: 68.902-280 – Macapá-AP, Brasil

3. Laboratório de Laboratório de Arthropoda - Universidade Federal do Amapá - Rodovia Juscelino Kubistichck, Km-02. Jardim Marco Zero-CEP: 68.902-280 – Macapá-AP, Brasil

RESUMO: O presente estudo buscou quantificar a presença de micro e macronutrientes e avaliar o potencial larvicida do extrato bruto etanólico das cascas do caule da espécie *Licania macrophylla* Benth. A quantificação dos micro e macronutrientes foi realizada por espectrometria de absorção atômica e o bioensaio do potencial larvicida realizado frente às larvas no terceiro estágio de desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*. Os valores quantificados por espectrometria de absorção atômica foram $25,56 \pm 2,90$ mg.L⁻¹ para cálcio, $2,62 \pm 0,16$ mg.L⁻¹ para magnésio, $2,40 \pm 1,45$ mg.L⁻¹ para potássio, $0,004 \pm 0,005$ mg. L⁻¹ para ferro, $0,02 \pm 0,01$ mg.L⁻¹ para zinco e $0,00$ mg.L⁻¹ para cobre. No bioensaio do potencial larvicida o extrato bruto etanólico apresentou baixa taxa de mortalidade nas concentrações testadas com CL₅₀ de 1497,19 ppm, no qual provavelmente, os metabólitos secundários com esta atividade não estarem em concentrações adequadas para causar mortalidade, visto que trata-se de extrato bruto. Os micros e macronutrientes são essenciais para o desenvolvimento do vegetal e fundamentais para produção de metabólitos secundários, seja por meio do processo de fotossíntese ou pela captação dos nutrientes via solo.

Palavras-chave: nutrientes, atividade larvicida, dengue, absorção atômica.

Physicochemical study and evaluation of larvicidal potential of the extract of the barks of *Licania macrophylla* Benth

ABSTRACT: This study sought to quantify the presence of micro-and macronutrients and evaluate the larvicidal potential of the crude ethanol extract of the stem bark of the species *Licania macrophylla* Benth. The quantification of micro and macronutrients was performed by atomic absorption spectrometry and the potential larvicidal bioassay carried forward to the third stage larvae of mosquito *Aedes aegypti* development. The values quantified by atomic absorption spectrometry were $25,56 \pm 2,90$ mg.L⁻¹ for calcium, $2,62 \pm 0,16$ mg.L⁻¹ to magnesium, $2,40 \pm 1,45$ mg.L⁻¹ for potassium, $0,004 \pm 0,005$ mg. L⁻¹ for iron, $0,02 \pm 0,01$ mg.L⁻¹ for zinc and $0,00$ mg.L⁻¹ for copper. In bioassay potential larvicidal the crude ethanol extract has low mortality rate in the concentrations tested CL₅₀ de 1497,19 ppm, probably in which, secondary metabolites with this activity are not in adequate concentrations to cause mortality, because it is crude extract. The micro and macronutrients are essential for the development of vegetable and essential for production of secondary metabolites, either through the process of photosynthesis and the uptake of nutrients in the soil.

Keywords: nutrients, larvicidal activity, dengue, atomic absorption.

1. Introdução

O uso de plantas medicinais e seus derivados para o tratamento de enfermidades é uma prática antiga, e que atualmente encontra-se em expansão por todo mundo (SILVA, 2002). Estima-se que no ano de 2000 os produtos a base de plantas medicinais moveram cerca de 30 bilhões de dólares. Nesse contexto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população dependem da medicina tradicional, em especial nos países emergentes. A fitoterapia tem surgido como uma opção medicamentosa bem aceita e acessível aos povos do planeta, e no caso do Brasil é fundamental para as necessidades locais de centenas de municípios no atendimento primário à saúde (MELO et al., 2007; OLIVEIRA; RAMOS; ALMEIDA, 2013).

Tendo em vista que o Brasil apresenta a maior biodiversidade genética vegetal do mundo, de um total estimado entre 350 e 550 mil espécies (SIMÕES, 2010), estudos realizados a partir de extratos vegetais surgem com a expectativa de se encontrarem compostos com propriedades inseticidas e seletivas para formulação futura de um produto comercial.

A Amazônia por apresentar grande potencial para obtenção de novos fármacos, ainda caminha a passos curtos para o desenvolvimento social, econômico e ambiental da região, devidos aos baixos investimentos nas áreas de pesquisas ligadas a melhoria da qualidade de vida (ASTOLFI FILHO et al., 2014). Em relação ao contágio de doenças, a dengue aparece como um dos maiores problemas de saúde pública não só no Brasil, mas em todo mundo.

A dengue é uma infecção viral transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* e caracteriza-se por ser um flavivírus com quatro diferentes antigênicos e distintos sorotipos. É problema de saúde crescente que estima causar risco a 2,5 bilhões de pessoas, atingindo principalmente os países do sul e sudeste da Ásia. A propagação da dengue ocorre por combinações de fatores: aumento da urbanização, migração e as viagens internacionais e a dificuldade de controle do vetor. O clima ajuda muito para contribuir a propagação global da dengue (WHITEHORN; FARRAR, 2010; SILVA; SILVA; LIRA, 1998; SILVA et al., 2004).

O desenvolvimento de resistência do vetor da dengue aos inseticidas químicos e sua toxicidade motivam a busca

de novos inseticidas naturais. O emprego de produtos naturais nas formulações de novos inseticidas como alternativa para o controle do mosquito e vetores de doenças é motivado, devido à composição dos agentes serem biodegradáveis (COSTA et al., 2005).

O uso tradicional que a medicina popular faz da *Licania macrophylla* Benth para o tratamento de epilepsia, malária, dor de dente, profilaxia de amebiose parasitária e desordens intestinais promove a ingestão de metais essenciais contido nos tecidos vegetais (RAMOS; RODRIGUES; ALMEIDA, 2014).

A família Chrysobalanaceae constitui-se em 18 gêneros e apresenta 531 espécies, comumente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais (HEMSING; ROMERO, 2010). Diversas espécies dos gêneros *Atuna*, *Kostermanthus*, *Licania*, *Magnistipula*, *Maranthes* e três *Parinari*, atingem altura de 30 m e os membros superiores em sua copa, normalmente, emergem na floresta tropical. A flor, por diferença, é comparada, embora quase todo gênero *Licania* é caracterizado por fundamental uniformidade de inflorescência e estrutura floral (ZUQUE et al., 2004). Suas folhas caracterizam-se pela forma simples e alternas, flores pentâmeras, pétalas livres, ovário súpero e ovários e óvulos eretos. Em sua composição há presença de flavonoides, triterpenos, diterpenoides, esteroides e taninos (YAKANDAWALA et al., 2001; LOCATELLI, 2009).

A produção e acúmulo dos metabólitos secundários é influenciada por vários agentes, no qual o solo é um fator de grande importância na absorção dos metais e do crescimento do vegetal através da mistura de matérias minerais e orgânicas importantes para o seu crescimento. Os metais absorvidos a partir do solo são acumulados nos tecidos vegetais e transmitidos para a cadeia alimentar. A capacidade de acumular ou excluir metais pesados por determinadas plantas se baseia na predisposição genética de sua espécie ou variedade, e pela disponibilidade dos metais e mobilidade no solo (FRANCO, 2011; FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013).

As plantas absorvem radiação ultravioleta para obtenção de energia pelo processo de fotossíntese e também necessitam de elementos minerais, absorvidos no solo para desenvolvimento estrutural, os minerais originam-se basicamente da rocha matriz, com exceção do nitrogênio que é obtido da atmosfera através de processos simbióticos. As plantas absorvem e armazenam os macro constituintes pelos elementos Mo, Cu, Zn, Mn e Fe; e os micronutrientes S, P, Mg, Ca, K e N; de forma diferenciada, de acordo com as necessidades fisiológicas e adaptações ao ambiente em que vivem (RADOMSKI, 1998). O presente estudo buscou quantificar a presença de micro e macronutrientes e avaliar o potencial larvicida do extrato bruto etanólico das cascas do caule da espécie *Licania macrophylla* Benth.

2. Material e Métodos

Coleta e identificação do material vegetal

O material vegetal foi coletado no entorno da área de proteção ambiental do distrito da Fazendinha. A espécie

foi identificada pela curadora Profa. Dra. Wellgliane Pararicio da Universidade Federal do Amapá-UNIFAP.

Obtenção dos extratos

A casca do caule da espécie foi separada para secagem a temperatura ambiente e triturado em moinho de facas no Laboratório de Bioprospecção e Absorção Atômica da Universidade Federal do Amapá-UNIFAP. Após, a secagem e pulverização, o material botânico foi colocado em balão de fundo redondo com etanol 96°GL na proporção 1:2 (m/v), compreendendo um período de extração durante 4 dias. Posteriormente, o extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida e acondicionados em erlenmeyer em dessecador.

Análise por Absorção Atômica das Cinzas

As cinzas foram obtidas seguindo a metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2008) e Farmacopeia Brasileira (2010). As mesmas foram solubilizadas em ácido nítrico 3M, submetidas à evaporação até quase secura e transferidas quantitativamente para balões de 100 mL. Quando necessárias, novas diluições foram realizadas adequadamente, para que os teores medidos ocorressem dentro da faixa de linearidade de concentração para cada elemento, possibilitando a quantificação dos mesmos em todas as amostras. Para este propósito, empregou-se a espectrometria de absorção atômica (modelo AA-6300 SHIMADZU) com chama nas condições experimentais recomendadas pelo fabricante. Utilizou-se lâmpada de deutério como corretor da absorção de fundo e nitrato de lantânio como supressor de interferentes na determinação de cálcio. As medidas de Ca, Cu, Fe, Mg, K e Zn foram realizadas nos comprimentos de onda, 422,67; 324,75; 248,33; 285,21; 766,49 e 213,86 nm, respectivamente (PINTO et al., 2005).

Atividade larvicida do extrato bruto etanólico

Larvas

As larvas de *Aedes aegypti* Linneu utilizadas nos bioensaios foram provenientes do insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá, todas da geração F₆, do 3° estágio jovem.

Bioensaios

Os ensaios biológicos foram conduzidos em uma sala (3m x 4m) com condições climáticas controladas: temperatura de 25°C, umidade relativa do ar de 75%, fotoperíodo de 12 horas, localizada no Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá, Macapá.

A metodologia utilizada seguiu o protocolo padrão da WHO (1970; 1980; 1984) com modificação no recipiente teste. Após a análise de séries de ensaios preliminares foram selecionadas as concentrações: 500, 400, 300, 200 e 130 ppm do extrato bruto etanólico das cascas da espécie *L. macrophylla* Benth., que se mostraram tóxicas para larvas das espécies de mosquitos utilizados como modelo neste estudo.

Uma solução-mãe foi preparada com 465 mg do extrato bruto etanólico, pré-solubilizada em Tween 80 e dissolvida em 93 mL de água para obter a concentração de 5000 ppm. A partir desta solução, uma série de diluições foi preparada para obter soluções concentrações de 500, 400, 300, 200 e 130 ppm. Para cada repetição de um tratamento foram utilizadas 10 larvas da mesma espécie, pipetadas para um béquer de 100 mL contendo água. Em seguida, as larvas foram removidas do bequer, para o recipiente-teste, assim minimizando-se o tempo entre o preparo da primeira e última amostra. Foi verificada a inocuidade do solvente na concentração empregada, estando à mesma presente, também nas réplicas do controle. Durante o experimento, a temperatura média da água foi de 25°C. Após 24 e 48 horas foram contadas as larvas mortas, sendo consideradas como tais todas aquelas incapazes de alcançar a superfície. Os dados obtidos da mortalidade (%) x concentração (ppm) foram analisados pelo programa SPSS, em gráfico de Probit, para determinar a Concentração Letal 50% (CL₅₀).

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA). As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey.

3. Resultados

A Figura 1 representa a concentração (em mg.L⁻¹) por nutrientes essenciais encontrados nas amostras analisadas.

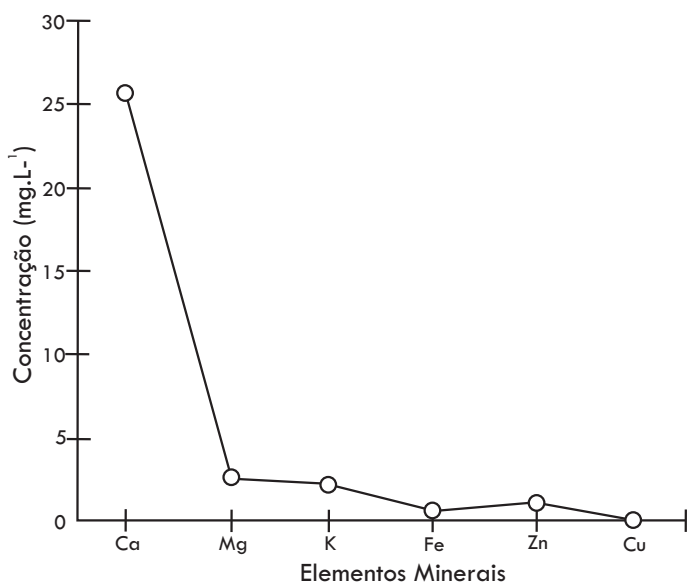


Figura 1. Resultado da quantificação de Absorção Atômica de macronutrientes e micronutrientes da casca do caule da espécie *Licania macrophylla* Benth.

No teste de atividade larvicida o extrato bruto etanólico é atóxico (CL₅₀ > 100 ppm), pois o valor calculado de CL₅₀ foi de 1497,1878 ppm, estatisticamente o valor *F* 12,9301 é bastante significativo com *p* = 0,0351, como os resultados da atividade larvicida não apresentam variação significativa entre as médias de mortalidade, no qual a taxa de mortalidade aumenta em virtude de

diminuição na determinação do valor da CL₅₀. A Figura 2 expressa a relação entre a mortalidade das larvas do mosquito *Aedes aegypti* nas concentrações do extrato para as diluições.

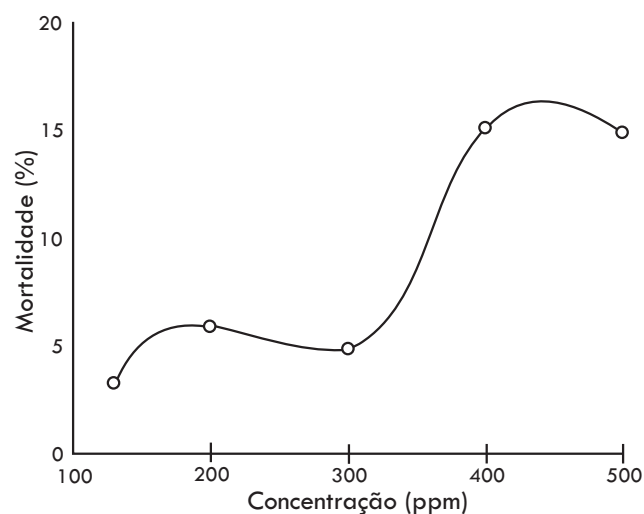


Figura 2. Resultado da atividade larvicida do extrato bruto etanólico das cascas do caule da espécie *Licania macrophylla* Benth.

4. Discussão

Estudos realizados por Epstein (1975) apud Faquin (2005) apresentaram as concentrações médias dos nutrientes minerais na matéria seca, suficientes para um adequado desenvolvimento das plantas, no qual os macronutrientes têm, em geral, seus teores expressos em porcentagem (%) e os micronutrientes em partes por milhão (ppm), todos na forma elementar. Os resultados podem ser comparados conforme Tabela 1.

Figura 2. Resultado da atividade larvicida do extrato bruto etanólico das cascas do caule da espécie *Licania macrophylla* Benth.

Elemento	Concentração na matéria seca		Resultados encontrados
	μ moles/g	Ppm	
Mo	0,001	0,1	N/R
Cu	0,10	6,0	0,00
Zn	0,30	20	0,02 ± 0,01*
Mn	1,0	50	N/R
Fe	2,0	100	0,004 ± 0,005*
S	30%	0,1%	N/R
P	60%	0,2%	N/R
Mg	80%	0,2%	2,62 ± 0,16*
Ca	126%	0,5%	25,56 ± 2,90*
K	250%	1,0%	2,40 ± 1,45*
N	1000%	1,5%	N/R

N/R- experimento não realizado para o elemento;

* as concentrações estão suficientes para o desenvolvimento do vegetal.

O elementos minerais em maior quantidade encontrados foram o cálcio (Ca), magnésio (Mg) e o potássio (K) com 25,56 ± 2,90 mg.L⁻¹, 2,62 ± 0,16 mg.L⁻¹, 2,40 ± 1,45 mg.L⁻¹, respectivamente; macronutrientes utilizados como elementos construtores no meio intracelular. O Ca participa da síntese da parede celular e auxilia as divisões celulares, o Mg tem um papel ativo nas enzimas envolvidas na respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA. O K participa na regulação osmótica da célula vegetal, sua ausência enfraquece o caule e as raízes, deixando a planta susceptível

ao ataque de fungos e influenciando no sistema de defesa (NUNES et al., 2013).

No organismo humano, o Ca é o principal constituintes dos ossos e dentes na forma do composto Hidroxiapatita. Um total de 1% de Ca encontrado no organismo humano está presente nos fluidos corpóreos e células, esse elemento é responsável pelo funcionamento adequado de nervos e músculos, pela coagulação sanguínea e pelo controle da permeabilidade das membranas celulares. O Mg presente no organismo humano é um co-fator que atua em todas as reações em que a molécula de ATP participa como substrato, a formação de proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e carboidratos depende da presença desse elemento, quando ocorre a diminuição da absorção desse metal pelo organismo, pode ocasionar distúrbios neurológicos e metabólicos no organismo humano. Já o K participa da manutenção do ritmo cardíaco, controla a pressão osmótica e o equilíbrio ácido-base dos fluidos corpóreos, entretanto, se utilizado em excesso, provoca a hipercalemia (YAMASHITA, 2006).

Não foi detectado a presença de cobre (Cu) nas amostras analisadas ($0,00\text{mg.L}^{-1}$), e os elementos ferro (Fe) e zinco (Zn) apareceram em concentrações pouco significativas, com $0,004\pm 0,005\text{mg.L}^{-1}$ e $0,02\pm 0,01\text{mg.L}^{-1}$, respectivamente. Zinco e Ferro são oligoelementos geralmente encontrados em pequenas quantidades. Nos vegetais, o Zn participa como co-fator para enzimas desidrogenases, proteinases, peptidases e fosfohidrolases, sua função básica está relacionada ao metabolismo de carboidratos, proteínas e fosfatos, na formação da estrutura das auxinas, RNA e ribossomos, no metabolismos dos fenóis, crescimento e multiplicação celular e na fertilidade dos grãos de pólen. O Fe nos vegetais participa da fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio e síntese de clorofila. A absorção de ferro é controlada através da citocinina, que dependerá do crescimento da raiz (PRADO et al., 2008; AMARO, 2014).

No organismo humano o Zn é constituinte de mais de 200 enzimas que participam da regulação da expressão gênica, do processo de divisão celular, da síntese de RNA e da transcripase reversa, do desenvolvimento de células epiteliais e da manutenção do sistema imunológico. A deficiência de zinco no organismo pode provocar lesões na pele, diarreia, irritabilidade, queda de cabelo, retardo no crescimento e aumento da susceptibilidade de infecções. O Fe é o principal constituinte da hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio a todas as células do organismo, atua como enzima na cadeia respiratória e sua deficiência provoca fraqueza e anemia, por outro lado, seu excesso pode provocar a hemocromatose. O Cu é um elemento tóxico ou essencial dependendo do teor em que é encontrado no organismo, em concentrações elevadas pode provocar amnésia e danos no estômago, intestino, fígado e rins (YAMASHITA, 2006).

Conforme o bioensaio realizado frente às larvas do mosquito *A. aegypti* o extrato bruto etanólico das cascas

do caule da espécie *L. macrophylla* apresentou baixo efeito larvicida, pois de acordo com a literatura (CHENG et al., 2003), substâncias com valores de CL_{50} menores que $100\ \mu\text{g/mL}$ são considerados bons agentes larvicidas.

No entanto, resultados encontrados por Silva et al. (2004) utilizando isolados de taninos da espécie *Magonia pubescens* St. Hil. mostraram grande potencial para efeito larvicida, sendo assim estudos realizados por Ramos; Rodrigues e Almeida (2014) no extrato bruto etanólico das cascas do caule da espécie *L. macrophylla* detectaram a presença dessa classe de metabólito secundário. Segundo Radomski (1998) plantas deficientes em N, P, K e S frequentemente têm maiores concentrações de fenóis e taninos, e a adição destes elementos estimulam o crescimento e suprimem a síntese dos compostos de taninos e fenólicos, conforme os valores encontrados para K de $40\pm 1,45\text{mg.L}^{-1}$, dessa forma, possivelmente o baixo efeito larvicida encontrado deve estar associado a baixa concentração do metabólito no extrato.

Os micro e macronutrientes são essenciais para o desenvolvimento do vegetal e fundamentais para produção de metabólitos secundários, seja por meio do processo de fotossíntese ou captação dos nutrientes via solo. O extrato das cascas do caule da espécie *L. microphylla* Benth no bioensaio de atividade larvicida realizado é considerado atóxico, devido à baixa taxa de mortalidade das larvas nas diferentes concentrações.

5. Agradecimentos

Aos Laboratórios de Farmacognosia e Fitoquímica, de Bioprospecção e Absorção Atômica da UNIFAP e ao Departamento de Ciências Biológicas em especial ao Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá.

6. Referências Bibliográficas

- AMARO, A. C. E. **Resposta Fisiológica à Aplicação de Reguladores Vegetais e Nutrientes em Videira "Crimson Seedless"**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, 2014.
- ASTOLFI FILHO, S.; SILVA, C. G. N.; BIGI, M. F. M. A. Bioprospecção e biotecnologia. **Parcerias Estratégicas**, v. 19, n.º. 38, p. 45-80, 2014.
- CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technol**, v. 89, p. 99-102, 2003.
- COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo / Rio de Janeiro, Ed. da Universidade de São Paulo e Livros Tec. e Cient. Editora, 1975. 34p.
- FAQUIN, V. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2005. 138 p. Especialização (Meio Ambiente)- Universidade Federal de Lavras-UFLA, Minas Gerais, 2005.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. Brasília: **ANVISA**. 2010.
- FRANCO, M. J.; CAETANO, I. C. S.; CAETANO J.; DRAGUNSKI, D. C. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivo Ciências da Saúde UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011.

- FREITAS, N. M.; SANTOS, A. M. C. M.; MOREIRA, L. R. M. O. Avaliação Fitoquímica e Determinação de Minerais em Amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. (Vinagar). **Caderno de Pesquisa**, v. 20, n. 3, p. 01-08, 2013.
- HEMSING, P. K. B.; ROMERO, R. Chrysobalanaceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, p. 281-288, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: IMESP, 2008.
- LOCATELLI, E. **Ecologia da polinização de *chrysobalanus icaco* L. (chrysobalanaceae): uma espécie fixadora de dunas**. In: IX Congresso de Ecologia do Brasil; São Lourenço, Minas Gerais, 2009.
- MELO, J. G. M.; MARTINS, J. D. G., AMORIM, E. L. C.; Ulysses Paulino de ALBUQUERQUE, U. P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, n.1, p. 27-36, 2007.
- NUNES, E. N.; FERNANDES, Y. T. D.; MONTENEGRO, I. N. A.; ALVES, C. A. B.; SOUTO, J. S. Eficiência da Translocação de Nutrientes em Plantas. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 90-95, 2013.
- OLIVEIRA, D. S. B.; RAMOS, R. S.; ALMEIDA, S. S. M. S. Phytochemical study, microbiological and cytotoxicity activity in *Artemia salina* Leach, aerial parts of *Petiveria alliacea* L. Phytolaccaceae. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 3, p. 76-82, 2013.
- PINTO, L. S.; NETO, M. A.; BACARIN, M. A.; CASTELLÓN, R. R.; GADELHA, T. S.; GADELHA, C. A.; CAVADA, B. S. Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 385-390, 2005.
- PRADO, R. M.; ROMUALDO, L. M.; ROZANE, D. E.; VIDAL, A. A.; MARCELO, A. V.. Modos de Aplicação de Zinco na Nutrição e na Produção de Matéria Seca do Milho BRS 1001. **Bioscience Journal**, v. 4, n. 1, p. 67-74, 2008.
- RADOMSKI, M. I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *Maytenus ilicifolia* Mart., em populações nativas, no município da Lapa – Paraná**. 1998. 108p. Dissertação. (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná, Paraná, 1998.
- RAMOS, R. S., RODRIGUES, A. B. L., ALMEIDA, S. S. M. S. Preliminary study of the extract of the barks of *Licania macrophylla* Benth: phytochemicals and toxicological aspects. **Biota Amazônia**, v. 4, n. 1, p. 94-99, 2014.
- SILVA, H. H. G.; SILVA, I.G.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, v. 27, p.51-63, 1998.
- SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M. G.; FILHO, E. R.; ELIAS, C. N.. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil.(Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 5, p. 396-399, 2004.
- SILVA, R. B. L. **A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil**. 2002. 172 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2002.
- SIMÕES, C. M. O.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6° ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.
- WHITEHORN, J.; FARRAR, J. Dengue. **British Medical Bulletin**, v. 95, s/n., p. 161-173, 2010.
- WHO. **Chemical methods for the control of arthropod vectors and pets of public health importance**, Geneve, 108p., 1984.
- _____. Insecticide resistance and vector control. **World Health Organization Technical Reports Series**. 443. 53p., 1970.
- _____. Resistance of vectors of diase to pesticides. **Technical Report Series** 655. Genebra. 48p., 1980.
- YAKANDAWALA, D. M. D.; MORTON, C. M.; PRANCE, G. T. The phylogenetic study of the chrysobalanaceae using morphological data. **Ceylon Journal of Science**, v. 28, p.1-17, 2001.
- YAMASHITA, C. I. **Estudo Sobre os Constituintes Inorgânicos Presente em Diferentes Espécies de Plantas Medicinal do Gênero *Casearia* Coleta em Regiões Distintas de Mata Atlântica, SP**. 2006, p. 130. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2006.
- ZUQUE, A. L. F.; WATANABE, E. S.; FERREIRA, A. M. T.; ARRUDA, A. L. A.; RESENDE, U. M.; BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O. Avaliação das atividades antioxidantes, antimicrobiana e citotóxica de *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 129-136, 2004.