

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Entomologia Médica

**Bioatividade de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae) sobre o
Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria*
(Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), em Condições de Laboratório**

LUCAS BARBOSA CORTINHAS

Orientadores: Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz
Dra. Paloma Martins Mendonça

Rio de Janeiro
2014

LUCAS BARBOSA CORTINHAS

**Bioatividade de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae) sobre o
Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria*
(Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), em Condições de Laboratório**

Monografia submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
especialista em Ensino em Entomologia
Médica, Curso de Especialização em
Entomologia Médica, pelo Instituto
Oswaldo Cruz/FIOCRUZ

Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – Setor de Entomologia
Médica e Forense

Data: 19/12/2014

Assinatura do Aluno

Assinatura do Orientador

Assinatura do 2º Orientador



INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Entomologia Médica

**Bioatividade de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae) sobre o
Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria*
(Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), em Condições de Laboratório**

LUCAS BARBOSA CORTINHAS

Orientadores: Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz
Dra. Paloma Martins Mendonça

Aprovado em:

EXAMINADORES:

Presidente: Rubens Pinto de Mello
Local de Origem: Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz

Titular: Viviane Zahner
Local de Origem: Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz

Titular: Ana Cláudia Fernandes Amaral
Local de Origem: Far-manguinhos - Fiocruz

Rio de Janeiro, 19 de Dezembro de 2014.

Agradecimentos

À minha mãe, meu pai (*in memoriam*) e minha irmã por estarem sempre me apoiando na minha trajetória de vida e acadêmica.

À minha orientadora Dra. Margareth Queiroz, por seu incentivo e ensinamentos e por mais uma vez ter acreditado em meu potencial e me oferecido à oportunidade de continuar meus estudos em Diptera.

Agradeço a Dra. Paloma Mendonça, por todo o apoio que tem me oferecido ao longo dessa jornada, compartilhado seus conhecimentos e por sua amizade.

Agradeço também a todos os alunos e pesquisadores do Setor de Entomologia Médica e Forense, por compartilharem horas e mais horas de seus dias, seja dentro ou fora do ambiente de trabalho ou hora de almoço.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica, por ter me dado esta grande oportunidade além de seus docentes pelo excelente ensinamento durante todo o curso.

Agradeço ao Instituto Oswaldo Cruz e aos órgãos de fomento (Capes, CNPq e Faperj) pelo auxílio no desenvolvimento do projeto.

Por fim, mas não menos importante agradeço aos meus amigos (que de tanto tempo já podem ser considerados irmãos) que não compartilham a vivência de laboratório e gosto pela ciência biológica, mas que sempre me ouvem falar o quanto amo essa vida.



INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Entomologia Médica

Bioatividade de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae) sobre o Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), em Condições de Laboratório

RESUMO

O gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) apresenta um grande valor econômico para a saúde pública e a medicina veterinária, pois são transmissores mecânicos de diversos patógenos e causadores de miíases. Inseticidas sintéticos (organoclorados, organofosforados, carbamatos) são tóxicos para os vertebrados, apresentam um amplo espectro de ação e causam sérios danos ao ambiente e a insetos não-alvo. Visando minimizar o dano causado no ambiente, um método mais seletivo e menos persistente utilizando compostos naturais tem ressurgido. Nesse contexto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade do extrato metanólico dos galhos e da fração em butanol do extrato metanólico dos galhos de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya putoria*. O extrato e a fração foram cedidos pelo Laboratório de Química em Produtos Naturais (UFRRJ) e foram testados nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL além de um grupo controle puro e outro com solvente (DMSO). Ambos os tratamentos (extrato metanólico e fração em butanol) apresentaram influência sobre o peso das larvas maduras, entretanto diferiram quanto a duração dos períodos de desenvolvimento, onde o EMG apresentou redução de dias e a EMG-B um aumento. Em relação à mortalidade do período de neolarva a adulto, as concentrações 0,25 e 0,75mg/mL do EMG foram as que apresentaram melhor resultado, apresentando um percentual de 43,1%. Esses resultados demonstram que tanto o extrato metanólico quanto a fração do extrato apresentam capacidade de alterar o desenvolvimento da espécie.

Palavras Chave: Dípteros mucoides; controle biológico; mosca-varejeira; inseticida botânico



INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Entomologia Médica

Bioactivity of *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae) on post-embryonic development of *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), under Laboratory

Abstract

The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) have a considerable economic value to public health and veterinary medicine as they are incriminated on mechanic transmission of a range of pathogens and can cause myiasis. Synthetic insecticides are extremely toxic for vertebrates, have a high action spectrum and can impact the environment and non-target insects. Trying to minimize the damage cause on the environmental a method more selective and less persistent using natural compounds is resurging. In this way, this work came with the purpose of evaluating the activity of the methanolic extract of the branches and the butanol fraction of the same extract from *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) on post-embryonic development of the species *Chrysomya putoria*. Both extract and fraction were provided by the Laboratório de Química em Produtos Naturais (UFRRJ). The concentrations 0.05, 0.25, 0.5, 0.75 and 1mg/mL were tested for each sample and two control groups, one without a solution and the other with DMSO (used as solvent). All the treatments (methanolic extract and butanol fraction) influenced the weight of the mature larvae but differed on the duration of the development periods, EMG reduced the duration of the periods and EMG-B increased the duration of the periods. Analyzing the mortality of the newly hatched larvae to adult period, we observe that the EMG 0.25 and 0.75mg/mL presented the best results with a percentage of 43.1%. These results show us that both the treatments have the ability to change the development of the species.

Palavras Chave: Mucoids Diptera; biological control; blowflies; botanic insecticides

Sumário

INTRODUÇÃO	8
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
Família Calliphoridae	10
Controle Químico	12
Família Myrtaceae.....	16
METODOLOGIA	17
Estabelecimento da Colônia de <i>Chrysomya putoria</i>	17
Obtenção das Larvas de Primeiro Instar.....	19
Obtenção dos Extratos de <i>Eugenia copacabanensis</i>	19
Preparação e Aplicação do EMG e do EMG-B	20
Análise dos Dados	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

A ordem Diptera é considerada de grande valor econômico, pois seus membros causam efeitos significativos na agricultura, saúde humana e animal e florestas (Courtney et al. 2009).

Dentre os dípteros muscoides, a família Calliphoridae é uma das mais importantes no que diz respeito à associação com o homem em ambientes urbanos (Mello et al. 2004, Marinho et al. 2006, Prado 2003). Ela é considerada uma das maiores produtoras de miíases e essa produção está relacionada à presença de feridas em humanos e animais domésticos, onde suas larvas se alimentam do tecido vivo e necrosado (Courtney et al. 2009).

Além disso, membros desta família estão incriminados na transmissão mecânica de patógenos, podendo carrear mais de 100 espécies de microorganismos patogênicos (Greenberg 1973, Lima e Luz 1991, Schuller 2000) e atuam como agentes irritantes e espoliadores (Freitas et al. 1978, Courtney et al. 2009).

O gênero *Chrysomya* não é natural do Novo Mundo, sua introdução está relacionada com a migração dos povos da África Portuguesa, que teve início em 1975 (Lima e Luz 1991, Barros-Cordeiro e Pujol-Luz 2010). A sua elevada taxa de dispersão, o rápido crescimento populacional e a capacidade adaptativa das espécies deste gênero têm suprimido populações de espécies nativas do continente americano (Guimarães et al. 1979), como pode ser evidenciado por Baumgartner e Greenberg (1984).

Os inseticidas sintéticos tem sido o meio de controle mais utilizado contra os dípteros (Vieira et al. 2001). Entretanto, o controle dessas moscas não é simples (Prado, 2003). De um modo geral, o uso exclusivo e indiscriminado de praguicidas pode provocar o desenvolvimento da resistência, impactar o ambiente, contaminando o solo, a água e os alimentos e causar danos toxicológicos à população humana (Prado 2003, Costa et al. 2004, Gallos et al. 2012). Deste modo, compostos mais seletivos e biodegradáveis são necessários em substituição aos sintéticos, que apresentam amplo espectro e toxicidade (Isman 2005).

Pesquisas recentes indicam que os compostos originários do metabolismo secundário de plantas são os princípios ativos dos inseticidas botânicos (Moreira et al. 2006) e estes, aliados ao estudo dos mecanismos de defesa das plantas tem auxiliado no desenvolvimento de métodos menos agressivos ao ambiente (Costa et al. 2004, Saito 2004), tornando assim o mercado mais promissor para o consumo de bioinseticidas (Moreira et al. 2006). Contudo, muitos estudos precisam ser desenvolvidos, tanto em laboratório, quanto em campo para que sejam identificados os princípios ativos e sua concentração nas diferentes partes das plantas, assim como os efeitos para os insetos não-alvo e seleção de solventes mais adequados e métodos de aplicação mais eficientes (Costa et al. 2004).

Sendo assim, objetivou-se aprimorar o controle do díptero *Chrysomya putoria* (Calliphoridae), avaliando o efeito do extrato metanólico dos galhos (EMG) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) assim como a fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B). Mais especificamente, o estudo propôs comparar a eficácia do EMG e da EMG-B sobre o desenvolvimento pós-embrionário do díptero muscoide, observando possíveis alterações no peso das larvas maduras da espécie, duração dos instares de desenvolvimento, assim como a mortalidade do período larval, pupal e neolarva a adulto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Família Calliphoridae

Com a desordem do aumento populacional e das habitações ocorre uma modificação do ecossistema local, criando novos nichos ecológicos onde certos animais apresentam capacidade de adaptação a condições geradas pelo homem (Mello et al. 2004).

A associação entre insetos e seres humanos é mais frequente em regiões metropolitanas em função da grande produção de lixo, resíduos e excrementos que exercem um papel fundamental para o desenvolvimento de determinadas espécies (Mello et al. 2004). Aproximadamente, 20 espécies de dípteros muscoides estão mais intimamente associadas ao homem nas áreas urbanas, sendo Calliphoridae, Fanniidae, Muscidae e Sarcophagidae consideradas as famílias mais importantes (Prado 2003).

Essa associação, juntamente com o comportamento endofílico, a diversidade alimentar e a sua alta capacidade de dispersão, garantem a essas famílias o potencial de transmissoras mecânicas de organismos patogênicos (Carraro e Milward-de-Azevedo 1999), dentre eles bactérias, ovos de helmintos, protozoários, vírus e fungos (Greenberg 1971, Furlaneto et al. 1984, Guimarães e Papavero 1999).

A família Calliphoridae ou mosca-varejeira, como é conhecida comumente (Lenko e Papavero 1996) apresenta uma coloração metálica característica que pode variar entre o azul, verde, cúprea e violeta (Guimarães e Papavero 1999, Serra-Freire e Mello 2006). Suas larvas apresentam hábitos saprófagos, podendo se desenvolver em diferentes tipos de matéria orgânica, causando miíases, onde são consideradas parasitas facultativos ou obrigatórios (Greenberg 1971, Guimarães e Papavero 1999, Rey 2010).

Os califorídeos da região Neotropical são agrupados em cinco subfamílias, podendo-se destacar Chrysomyinae, Calliphorinae e Luciliinae, que compreendem os gêneros *Cochliomyia* Townsend 1915, *Compsomyiops* Townsend 1918, *Lucilia* Robineau-Desvoidy 1830, *Calliphora* Robineau-Desvoidy 1830 e *Chrysomya* Robineau-Desvoidy 1830, incriminados como os

agentes causadores de miíases nesta região (Dear 1985, Guimarães e Papavero 1999).

Cada espécie apresenta uma reação distinta frente às condições ambientais (Marinho et al. 2006). A dinâmica populacional em Calliphoridae possivelmente é influenciada diretamente pela presença de humanos, como pode ser observado nos estudos de Marinho et al. (2006), onde os autores analisaram a influência da presença humana na Reserva Biológica do Tinguá, RJ. A produção de lixo e a proximidade das casas nas bordas da reserva alteraram o ambiente florestal, afetando assim a diversidade das espécies e aumentando significativamente o número de espécies sinantrópicas (Marinho et al. 2006).

Chrysomya é um gênero tropical e subtropical originário do Velho Mundo, onde é considerado um dos mais abundantes e de maior importância econômica e extremamente sinantrópicos (Guimarães & Papavero 1999). No Novo Mundo, quatro espécies foram acidentalmente introduzidas (Laurence 1981, Prado e Guimarães 1982). O primeiro registro do gênero no Brasil foi em 1975, onde adultos de *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) foram identificados em Curitiba (Imbiriba et al. 1977). Nos anos seguintes, Guimarães et al. (1978) observaram a presença de mais duas espécies deste gênero, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), originária da África e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), do sudeste asiático. A partir de então, essas espécies se encontravam oficialmente relatadas no país (Guimarães et al. 1978, Guimarães et al. 1979, Laurence 1981, Laurence 1986).

As espécies introduzidas na década de 1970 adaptaram-se muito bem ao novo ambiente, apresentando uma dispersão muito rápida (Laurence 1981, Laurence 1986). Com essa adaptação, ocorreram modificações na entomofauna local, onde espécies endêmicas, como *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) e *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819), foram deslocadas para outras regiões (Prado e Guimarães 1982). Em estudos sobre califorídeos, d'Almeida (1983) encontrou *C. macellaria* restrita a região rural do Rio de Janeiro e Faria et al. (1999) encontraram baixa prevalência desta espécie em seu estudo. Mais recentemente, em trabalhos sobre levantamento desta

família foi observado que o gênero *Chrysomya* foi o mais abundante durante o período analisado (Huber e Barros 2002, d'Almeida e Fraga 2007, Batista da Silva et al. 2010, Correa et al. 2010).

A rápida colonização do gênero foi devido a sua capacidade de dispersão, hábitos diversificados e grande competição por sítios de criação (Guimarães et al. 1983; Aguiar-Coelho e Milward-de-Azevedo 1998; Marinho 2006). Normalmente, os adultos depositam os ovos sobre matéria orgânica de origem vegetal e/ou animal em decomposição (fezes animais, carcaças de animais, lixo de origem doméstica, lixões a céu aberto), onde as larvas se desenvolvem (Prado 2003).

A espécie *Chrysomya putoria* é originária da região Africana, e sua distribuição inicial abrangia da Tanzânia ao Congo (Greenberg 1971), ela pode ser encontrada dispersa pelo Brasil, habitando diversos substratos como lixo, fezes e carne (Laurance 1986). Também é considerada de grande importância médica e sanitária, sendo produtora de míases secundárias além de transmissora mecânica de patógenos (Zumpt 1965, Greenberg 1971).

Controle de Insetos

Os inseticidas de origem botânica (e.g. piretro, rotenona e nicotina) foram amplamente utilizados durante as décadas de 1930 e 1940 (Aguiar-Menezes e Menezes 2005, Rattan 2010), sendo o Brasil um grande produtor e exportador (Aguiar-Menezes e Menezes 2005). Esses inseticidas apresentavam uma maior segurança em seu uso e um menor impacto ambiental. Entretanto, com a descoberta dos compostos sintéticos, em meados do ano de 1940, sua utilização no controle de vetores e pragas foi cada vez mais tomando o mercado dos inseticidas naturais, principalmente nas décadas de 1950 e 1960 (Casida e Quistad 1998, Aguiar-Menezes e Menezes 2005).

Essa rápida ascensão dos inseticidas sintéticos foi devido as suas características únicas de apresentar um amplo espectro de ação e elevada toxicidade (Casida e Quistad 1998), além de sua persistência no ambiente, que era tratada como eficaz, pois afetaria várias gerações do inseto-alvo (Viegas-Júnior 2003) e um baixo custo (Gullan e Cranston 2005).

A utilização de inseticidas sintéticos permitiu ao homem, por certo período, aumentar a produtividade agrícola, além de controlar vetores, contudo, esta utilização acabou provocando agravos tanto à sua saúde quanto do ambiente. Estes produtos são considerados os agentes mais nocivos à saúde e ocupam um importante lugar nos países em desenvolvimento, principalmente no que se refere à saúde pública (Carvalho 1991). Segundo dados de Jeyaratman (1990), países em desenvolvimento, somente no ano de 1980, utilizaram em seus programas de saúde pública um valor aproximado de 50 mil toneladas de inseticidas e, segundo a OPAS (1996), no Brasil os inseticidas químicos tiveram sua primeira aplicabilidade nesses programas.

Segundo Brechelt (2004), os inseticidas químicos podem ser divididos em quatro tipos. Os organoclorados (e.g. DDT) são compostos derivados do petróleo e apresentam baixa solubilidade em água e grande lipossolubilidade, o que faz com que se acumulem ao longo da cadeia alimentar e nos tecidos adiposos (OPAS 1996, Funasa 2001, Brechelt 2004). Eles por muitas vezes são incriminados como contaminadores tanto do solo quanto da água (Brechelt 2004). Os organofosforados (e.g. TEPP), além de estarem associados à contaminação do ar e da água, apresentam maior toxicidade para os vertebrados do que os compostos clorados, entretanto, sua persistência é menor (Brechelt 2004). Por fim, podemos citar os carbamatos, que apresentam toxicidade muito elevada, sendo de grande risco para quem o aplica (e.g. carbamil) e os piretroides (sintetizados a partir de um composto de origem vegetal), que desenvolve resistência nos insetos muito rapidamente (Saito 2004; Brechelt 2004).

A aplicação repetida destes inseticidas tem elevado o número de casos de resistência nos insetos (Viegas-Junior 2003). Esta resistência já foi observada em todos os grupos de inseticidas sintéticos (Gallos et al. 2012). Esse aumento de insetos resistentes gera uma grande consequência para o combate aos vetores e pragas, uma vez que se torna necessária à aplicação de inseticidas em uma frequência mais elevada, o aumento de sua dose, além de utilização de misturas de substâncias ou ainda por substituições utilizando substâncias de maior toxicidade (Gallos et al. 2012). Nas últimas décadas, foi

verificado um número elevado de espécies de artrópodes desenvolvendo resistência ao menos a um tipo de inseticida (Gullan e Cranston 2005).

Além do surgimento de resistência nos insetos-alvos existem alguns efeitos indesejáveis que surgem pela aplicação direta dos compostos sintéticos como a destruição de organismos não-alvo (e.g. polinizadores), a ressurgência de insetos, o aumento populacional de um inseto que não era tratado como praga, assim como danos ao ambiente e a saúde humana (Gullan e Cranston 2005).

O aumento da preocupação com os efeitos destes pesticidas sobre a saúde e o meio ambiente que vem ocorrendo nos últimos anos tem gerado o interesse pelo desenvolvimento de moléculas com menor poder de agressão ao ambiente (Gallos et al. 2012). Sendo assim, são de importante valia o estudos e aplicação de novas técnicas de controle, visando uma melhor segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade, juntamente com baixo impacto ambiental (Costa et al. 2004, Viegas-Júnior 2003). Com isso, nas últimas décadas, o interesse em desenvolver e usar produtos botânicos vem aumentando (Rattan 2010), entretanto, até a década de 1990, estes produtos constituíam 1% do mercado mundial de inseticidas (Isman 1997).

Através de sua coexistência com insetos, as plantas produzem substâncias, oriundas do metabolismo secundário, que se acumulam em seus tecidos e agem como um mecanismo de defesa bioquímica, também chamada de aleloquímicos (Isman 1997, Cathouse 2002, Wiesbrook 2004). Esses compostos apresentam estruturas químicas e modelos de ação diferentes (Buss e Park-Brown 2002), entretanto, encontram-se intimamente relacionados (Isman 1997). Essas misturas podem atuar de forma deterrente para alguns insetos durante um maior tempo, quando comparado a compostos isolados (Rattan 2010), além de apresentarem ações específicas para certos organismos, minimizando a atuação sobre organismos não alvos (Saito 2004).

Deste modo, Isman (1997) levantou um questionamento sobre as vantagens da utilização destas misturas complexas. Ainda segundo o mesmo autor, essas misturas atuam de forma sinérgica e sua utilização pode vir a ser

vantajosa quando se refere ao desenvolvimento de resistência. Gallos et al. (2012) também consideram a presença de mais de um composto ativo como uma vantagem, no entanto, essa variação na composição dificulta o estabelecimento da relação entre o efeito e os compostos ativos, assim como a concentração (Costa et al. 2004).

Analisando mais profundamente, os metabólitos secundários podem apresentar diversos efeitos sobre os insetos (Roel 2001). Segundo Costa et al. (2004), já é constatado que alguns extratos vegetais apresentam efeito de alongamento das fases do ciclo biológico, assim como deformações e morte durante o desenvolvimento dos insetos. Os mesmos autores explicam que a deterrência pode ser um dos fatores que possibilitam essa alteração no desenvolvimento e/ou as deformidades. Outro mecanismo de ação é a atuação sobre a reprodução, onde pode provocar a redução do número de ovos ou até a inibição da oviposição (Costa et al. 2004).

Buss e Park-Brown (2002) listaram algumas problemáticas para a utilização desse método de controle que são a rápida degradação (e.g. pela luz, ar, umidade), apresentar uma morte a longo prazo, uma baixa toxicidade, custo elevado, além de uma disponibilidade incerta da planta. Em contra partida, Wiesbrook (2004) listou as vantagens da aplicação desse método que são sua rápida degradação, não persistindo durante um longo período no ambiente, rápida ação que afeta quase imediatamente o inseto alvo (e.g. ação deterrente), baixa toxicidade para vertebrados de sangue quente e seletividade para insetos não-alvo.

O objetivo da pesquisa com inseticidas botânicos é descobrir, desenvolver e entender os novos produtos e métodos para uma melhor efetividade no controle de insetos e assim melhorar a produção e a saúde pública (Casida e Quistad 1998). Na literatura aparecem descritas aproximadamente 866 espécies de plantas com atividade inseticida e destas, em média, 656 foram identificadas por apresentar atividade significativa (Brechelt 2004, Boulogne et al. 2012). Na área da saúde, diversos extratos vegetais vêm sendo pesquisados visando principalmente os insetos transmissores de doenças, tais como mosquitos hematófagos, moscas, baratas e triatomíneos (Roel 2001).

Para Roel (2001), o sucesso dos inseticidas botânicos deve se basear desde o levantamento e as avaliações das espécies silvestres até a identificação e a concentração dos metabólitos secundários nas diferentes estruturas presentes nas plantas, contudo mesmo sendo de origem natural, é preciso utilizá-los com a mesma precaução que os inseticidas químicos (Brechelt 2004).

Família Myrtaceae

A família Myrtaceae é encontrada principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Oliveira et al. 2006) e está dividida em 23 gêneros apresentando um total de 1013 espécies descritas para o Brasil, sendo 778 endêmicas do país (Sobral et al. 2014).

O gênero *Eugenia*, considerado por Landrum e Kawasaki (1997) como um dos maiores gêneros dentre todos os descritos para o território nacional, pode ser encontrado em forma de árvores, arbustos e subarbustos (Sobral et al. 2014). São aceitas para o gênero 385 espécies para todo o Brasil, sendo 299 endêmicas (Sobral et al. 2014). Apresenta um importante papel socioeconômico, sendo utilizado na alimentação, ornamentação, produção de óleos essenciais, além de sua utilização na medicina popular (Yang et al. 2000, Oliveira et al. 2006, Cassaniti et al. 2009, Magina et al. 2009).

Em trabalhos sobre a constituição química deste gênero, registram-se como principais constituintes os óleos essenciais, ricos em monoterpenos e sesquiterpenos, taninos, flavonoides, triterpenos e fenilpropanoides (Mahmoud et al. 2001, Manoharan et al. 2007, Magina et al. 2009). Segundo Junges et al. (1999), os triterpenos são ditos como responsáveis por diversas propriedades biológicas observadas em espécies do gênero.

A espécie *Eugenia copacabanensis* é encontrada na forma de árvore (conhecida vulgarmente como princesinha de Copacabana) e é endêmica do território nacional, podendo ser encontrada em quatro estados brasileiros (Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná) (Sobral et al. 2014).

3. METODOLOGIA

Estabelecimento da Colônia de *Chrysomya putoria*

Para o estabelecimento da colônia de *Chrysomya putoria*, os adultos foram coletados na caçamba de lixo (Figura 1) localizada no Morro do Amorim (Figura 2), Manguinhos, Rio de Janeiro, com o auxílio de uma rede entomológica.



Figura 1 - Caçamba de lixo onde a espécie *Chrysomya putoria* foi coletada. (Acervo pessoal)



Figura 2 – Imagem aérea da saída da Fiocruz para o Morro do Amorim. I – Localização da caçamba de lixo; II – Pavilhão Herman Lent (Farmanguinhos), local onde se localiza o laboratório. (Google Maps)

Os adultos coletados foram transferidos para tubos Falcon e transportados para o Laboratório de Transmissores de Leishmanioses - Setor de Entomologia Médica e Forense, localizado no Pavilhão Herman Lent (Figura 2), aonde foram identificados em nível de família. Os indivíduos pertencentes à família Calliphoridae foram identificados com o auxílio da chave dicotômica de Mello (2003), sexados e transferidos para gaiolas de madeira (30cm x 30cm x 30cm) revestidas por tela de náilon nas laterais e com uma abertura frontal para o manuseio dos mesmos (Figura 3), sempre adotando a proporção de um macho para uma fêmea (1:1).



Figura 3 – Gaiola de criação utilizada no laboratório para a criação. (Acervo pessoal)

Uma vez montada a colônia de *C. putoria*, foi oferecida uma dieta à base de sacarose e um recipiente de plástico com um pavio feito de gaze contendo água, além de carne bovina putrefata para a maturação dos ovários (Figura 4).



Figura4 - Sacarose, água e carne bovina em putrefação oferecida a colônia para a manutenção da espécie em laboratório. (Acervo pessoal)

Obtenção das Larvas de Primeiro Instar

Para a obtenção de neolarvas foi oferecida às colônias de *Chrysomya putoria*, após a maturação dos ovariolos, carne bovina em início de putrefação em uma placa de Petri (Figura 4). Quando realizada a ovipostura, essas placas foram retiradas e reservadas até a eclosão das larvas de primeiro instar. Após a eclosão, essas larvas foram separadas em grupos (N=50) e colocadas sobre papel filtro para que a solução pudesse ser aplicada em todas ao mesmo tempo.

Obtenção dos Extratos de *Eugenia copacabanensis*

Todo o processo da obtenção do extrato e da fração foi realizado pelo Mestre Almir Ribeiro de Carvalho Júnior, como parte de sua dissertação de mestrado, sob a orientação do Doutor Mário Geraldo de Carvalho, no Laboratório de Química em Produtos Naturais, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e encontra-se descrita detalhadamente em Carvalho-Júnior (2014).

O extrato metanólico utilizado no trabalho foi feito a partir dos galhos da espécie *E. copacabanensis* que foram coletados na Restinga do Salgado, em Arraial do Cabo, RJ. Esse material foi identificado pelo botânico Marcelo Souza (Museu Nacional do Rio de Janeiro – UFRJ) e a exsicata depositada no herbário RBR, do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob o número 34535.

Para a obtenção do extrato metanólico dos galhos (EMG), uma vez no laboratório, os galhos foram secos, triturados e a extração se deu por maceração em metanol até a exaustão. Após estes processos, a solução gerada foi filtrada e concentrada sobre pressão reduzida, obtendo assim o extrato metanólico dos galhos. Para a fração em butanol (EMG-B) parte do extrato metanólico foi solubilizado e utilizado o butanol como solvente.

Preparação e Aplicação do EMG e do EMG-B

Para a aplicação e o teste do extrato, foi feita uma solução mãe na concentração de 1mg do EMG e EMG-B por 1mL de DMSO. A partir desta concentração, foram diluídas as concentrações de 0,05, 0,25, 0,5 e 0,75mg/mL. Os tratamentos consistiram na aplicação tópica das concentrações (0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL) sobre as larvas recém-eclodidas (L1 ou neolarvas) na proporção de 1µL/larva. Para comparação, foi realizado um controle com DMSO e um controle sem aplicação de nenhuma substância. Em cada tratamento foram realizadas três réplicas, cada uma contendo um N=50 neolarvas, totalizando 150 neolarvas por concentração e grupos controle.

Após a aplicação, as neolarvas foram transferidas para a dieta, que consistiu em 1g de carne bovina putrefata por neolarva (50g por réplica), garantindo deste modo, que as larvas tivessem alimento suficiente para seu completo desenvolvimento e que não houvesse competição por alimento. Esse recipiente foi colocado dentro de um recipiente maior, contendo vermiculita, que é utilizado como substrato de pupação, sendo cobertos por tecido de náilon (tipo escaline) preso por elástico.

O experimento foi realizado em câmara climatizada (tipo B.O.D.), regulada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ URA e com fotoperíodo de 12 horas.

As observações foram realizadas diariamente, para coletar as larvas maduras que abandonassem a dieta. Essas foram pesadas em lotes de cinco indivíduos e acondicionadas em tubos de ensaio devidamente identificados e com $\frac{1}{4}$ de seu volume em vermiculita, tampados com tecido escaline, preso por elástico e mantidos na mesma condição citada anteriormente até a emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos foram sexados e observados para possíveis deformidades.

Análise dos Dados

Os parâmetros avaliados foram: o peso das larvas maduras, a duração do período larval, pupal e da fase de neolarva a adulto, assim como a mortalidade dos estágios de desenvolvimento, que foi corrigida através da fórmula da correção de Abbott (Abbott 1925). A fórmula de Abbott corrige os valores de mortalidade descontando dos grupos tratados a mortalidade referente aos grupos controle.

Os resultados foram analisados através da análise de variância (ANOVA 1; $P \leq 0,05$) e teste de Tukey–Kramer para a determinação de diferenças entre as médias das amostras. Para a comparação das mortalidades foi utilizado o teste estatístico Qui-Quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioatividade do EMG de *Eugenia copacabanensis* sobre a duração média do período larval pode ser observada na figura 5 e na tabela 1. Nota-se que ocorre um aumento da permanência das larvas no grupo controle DMSO e nas cinco concentrações testadas. Apesar deste aumento significativo na média do controle DMSO, a concentração de 0,5mg/mL apresenta diferença estatística de ambos os controles, inferindo que a substância esteja atuando sobre este parâmetro. Mendonça et al. (2011), ao testarem a atividade do látex extraído de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) sobre a espécie *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), observaram também um aumento na duração média deste estágio, entretanto apenas na concentração mais elevada (3%), assim como Cabral et al. (2007), ao testar apenas a concentração de 100µg/µL com o metabólito secundário yangambina extraído *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae).

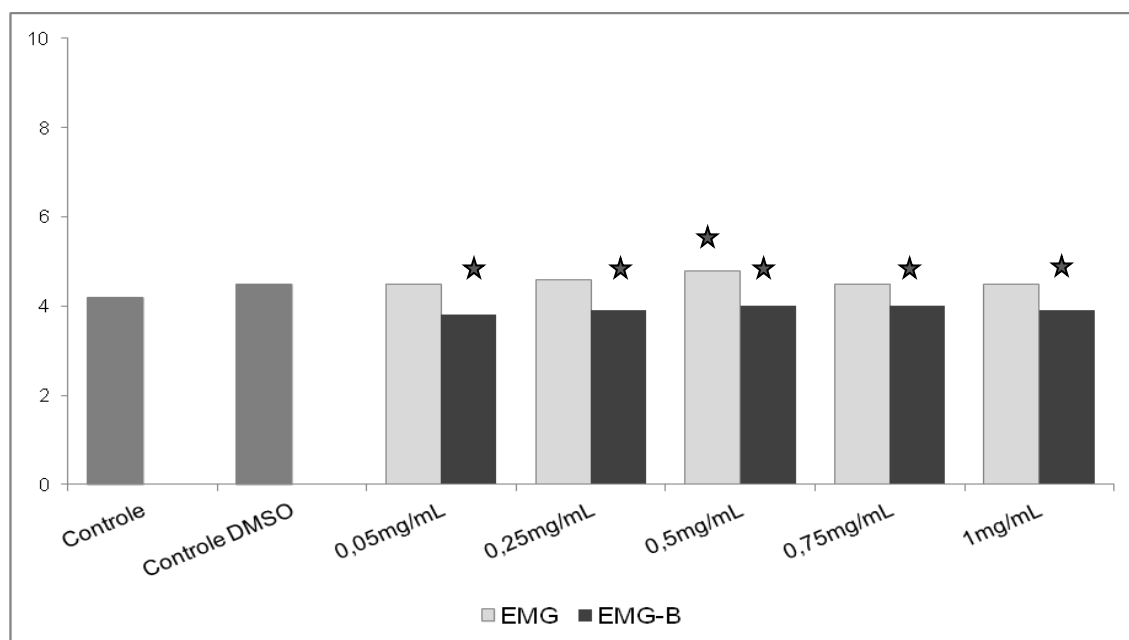


Figura 5 – Média da duração do período larval (dias) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) e fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle.

★ – Diferença significativa para ambos os grupos controle.

Tabela 1 - Duração do período larval, pupal e de neolarva a adulto (dias) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratadas com extrato metanólico dos galhos (EMG) de *Eugenia copacabanensis* nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controles, em condições de laboratório.

Grupos (Tratamentos)	Período Larval	Período Pupal	Período Neolarva a Adulto
	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$
Controle	4,2 ± 0,4 _a	4,8 ± 0,5 _a	9,0 ± 0,5 _a
Controle DMSO	4,5 ± 0,5 _b	4,7 ± 0,6 _a	9,1 ± 0,8 _{a,b}
EMG 0,05mg/mL	4,5 ± 0,6 _b	4,9 ± 0,4 _{a,b,c}	9,2 ± 0,4 _{b,c}
EMG 0,25mg/mL	4,6 ± 0,6 _{b,c}	4,9 ± 0,4 _{b,c}	9,4 ± 0,6 _c
EMG 0,5mg/mL	4,8 ± 0,5 _c	5,0 ± 0,0 _c	9,8 ± 0,5 _d
EMG 0,75mg/mL	4,5 ± 0,6 _b	5,0 ± 0,1 _{b,c}	9,4 ± 0,5 _c
EMG 1mg/mL	4,5 ± 0,6 _{a,b}	4,9 ± 0,3 _{b,c}	9,3 ± 0,5 _{b,c}

Sendo χ a média, DP o desvio padrão.

Letras distintas indicam médias diferentes entre si.

Controversamente, a EMG-B apresentou uma redução na duração média em todas as concentrações testadas e estas demonstraram diferença significativa quando comparadas com os grupos controle (Figura 5) (Tabela 2). Essa redução faz com que essa fração também apresente diferença estatística do outro extrato testado (EMG) (Tabela 3). Para a EMG-B, destaca-se a concentração de 0,05mg/mL, que apresenta a menor duração média (3,8 dias) entre todas as concentrações testadas. O mesmo resultado pode ser observado em Carriço et al. (2014), que ao analisarem a eficácia do extrato das folhas de *Pouteria sapota* (Sapotaceae) sobre a mesma espécie de díptero utilizada nesse estudo, encontraram uma redução na duração média do estágio larval. Mello et al. (2010) também observaram a mesma atividade ao avaliarem o látex de *Euphorbia splendens* var. *hisloppi* (Euphorbiaceae) sobre a espécie *Megaselia scalaris* (Loew) (Diptera: Phoridae).

Tabela 2 - Duração do período larval, pupal e de neolarva a adulto (dias) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratadas com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controles, em condições de laboratório.

Grupos (Tratamentos)	Período Larval	Período Pupal	Período Neolarva a Adulto
	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$
Controle	4,2 ± 0,4 _a	4,8 ± 0,5 _a	9,0 ± 0,5 _a
Controle DMSO	4,5 ± 0,5 _b	4,7 ± 0,6 _a	9,1 ± 0,8 _a
EMG-B 0,05mg/mL	3,8 ± 0,4 _c	4,1 ± 0,3 _b	7,9 ± 0,6 _b
EMG-B 0,25mg/mL	3,9 ± 0,2 _{d,e}	4,1 ± 0,3 _b	8,0 ± 0,4 _{b,c}
EMG-B 0,5mg/mL	4,0 ± 0,2 _e	4,0 ± 0,2 _b	8,1 ± 0,3 _c
EMG-B 0,75mg/mL	4,0 ± 0,2 _{d,e}	4,0 ± 0,0 _b	8,0 ± 0,2 _{b,c}
EMG-B 1mg/mL	3,9 ± 0,3 _{c,d}	4,1 ± 0,4 _b	8,0 ± 0,5 _{b,c}

Sendo χ a média, DP o desvio padrão.

Letras distintas indicam médias diferentes entre si.

Tabela 3 - Comparação entre a duração do período larval, pupal e de neolarva a adulto da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratadas com extrato metanólico dos galhos (EMG) e da fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis*, em condições de laboratório.

Grupos (Tratamentos)	Período Larval	Período Pupal	Período Neolarva a Adulto
	EMG 0,05mg/mL	4,5 ± 0,6 _a	4,9 ± 0,4 _a
EMG 0,25mg/mL	4,6 ± 0,6 _{a,b}	4,9 ± 0,4 _a	9,4 ± 0,6 _b
EMG 0,5mg/mL	4,8 ± 0,5 _b	5,0 ± 0,0 _a	9,8 ± 0,5 _c
EMG 0,75mg/mL	4,5 ± 0,6 _a	5,0 ± 0,1 _a	9,4 ± 0,5 _{a,b}
EMG 1mg/mL	4,5 ± 0,6 _a	4,9 ± 0,3 _a	9,3 ± 0,5 _{a,b}
EMG-B 0,05mg/mL	3,8 ± 0,4 _c	4,1 ± 0,3 _b	7,9 ± 0,6 _d
EMG-B 0,25mg/mL	3,9 ± 0,2 _c	4,1 ± 0,3 _b	8,0 ± 0,4 _e
EMG-B 0,5mg/mL	4,0 ± 0,2 _d	4,0 ± 0,2 _b	8,1 ± 0,3 _{d,e}
EMG-B 0,75mg/mL	4,0 ± 0,2 _{c,d}	4,0 ± 0,0 _b	8,0 ± 0,2 _{d,e}
EMG-B 1mg/mL	3,9 ± 0,3 _{c,d}	4,1 ± 0,4 _b	8,0 ± 0,5 _{d,e}

Sendo letras distintas médias diferentes entre si.

O efeito sobre a duração do período pupal pode ser observado na figura 6 e tabela 1 e 2. Os grupos controle e controle DMSO não se diferenciam entre

si. Apesar do aumento na permanência no período pupal nos insetos tratados com EMG. Diante deste fato, podemos destacar a concentração de 0,5mg/mL, que é a única que apresenta diferença significativa de ambos os controles, com uma duração média de 5,0 dias. Carriço et al. (2014), assim como o nosso trabalho para o EMG, também observaram um aumento na duração deste período e Mendonça et al. (2011) observaram esse aumento apenas para a concentração de 2% do látex de *P. amapa*.

Quando observamos a atuação da EMG-B sobre o período pupal (Figura 6) (Tabela 2), nota-se que todas as concentrações apresentam uma redução significativa em sua duração média, assim como ocorre com o período larval e em Mello et al. (2010), que apresentaram uma diminuição na duração desta fase. Gomes et al. (1997) avaliaram a atividade do látex de *E. splendens* var. *hislopii* sobre a espécie *Peckia (Peckia) chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Sarcophagidae) e também observaram uma redução do período pupal, apesar do modo de aplicação ter sido diferente do presente estudo (aplicado sobre a dieta).

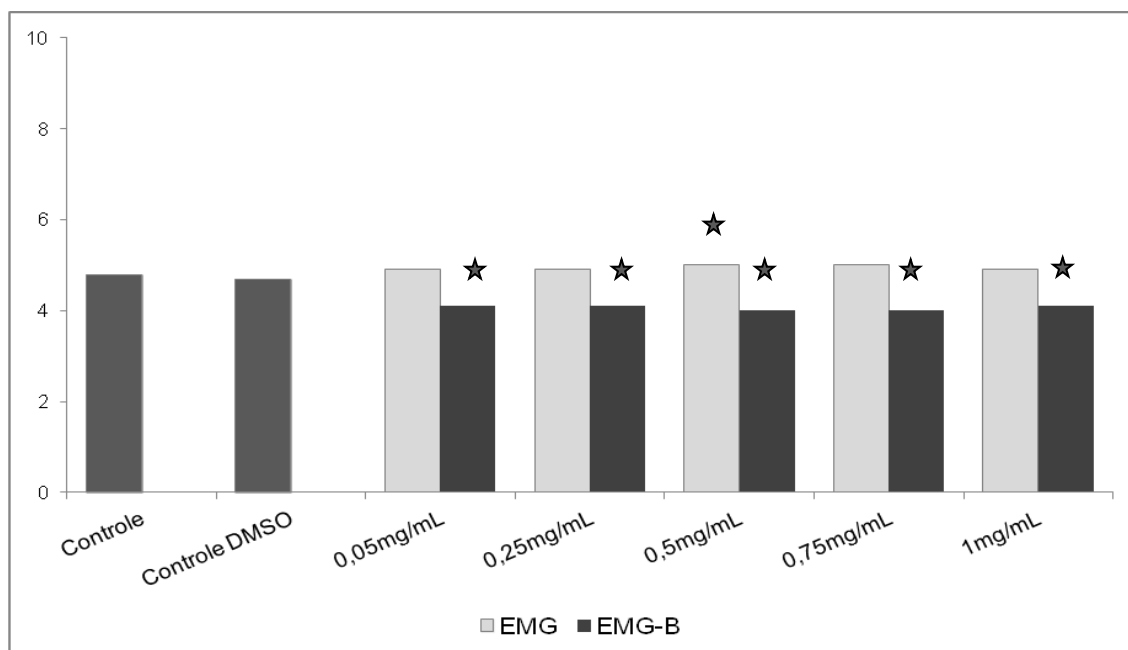


Figura 6 – Média da duração do período pupal (dias) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) e fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle. ★ – Diferença significativa para ambos os grupos controle.

d'Almeida et al. (2001) relataram que a duração do período de neolarva a adulto pode ser um dos parâmetros mais competentes quando se avalia o efeito de novas metodologias (e.g. dieta, substâncias) sobre dípteros muscoides, pois este previne possíveis distorções aparentes entre os estágios larval e pupal. Deste modo, analisando a figura 7 e as tabelas 1 e 2, podemos observar os resultados obtidos para a duração média do período de neolarva a adulto. Os grupos controle não se diferenciam entre si, e como exposto por d'Almeida et al. (2001), esse resultado difere do encontrado para o período larval, indicando que a diferença apresentada entre os grupos controle no período inicial não se torna justificável a ponto de alterar o tempo de desenvolvimento total do inseto.

A duração do período de neolarva a adulto também apresenta um aumento nos valores dos tratados com EMG, onde as concentrações 0,25, 0,5 e 0,75mg/mL apresentam diferença significativa de ambos os grupos controle. Entretanto, quando comparadas entre si, destaca-se novamente a concentração de 0,5mg/mL, pois se diferencia significativamente de todas as outras, apresentando a maior média de duração deste estágio (9,8 dias) (Figura 7) (Tabela 1). Para este período, Mendonça et al. (2011) encontraram mais uma vez um aumento significativo nas concentrações mais elevadas (2 e 3%), assim como Carriço et al. (2014) para as concentrações de 10 e 25%.

Na avaliação da duração com o tratamento EMG-B, assim como nos períodos anteriores para este tratamento, pode ser observada uma redução significativa em todas as concentrações quando comparadas com os grupos controle. Entre si, as concentrações apresentam diferença apenas quando comparadas as concentrações de 0,05 e 0,5mg/mL que apresentaram média de duração de 7,9 e 8,1 dias, respectivamente (Figura 7) (Tabela 2). Em Mello et al. (2010) também foi observada uma diminuição significativa para a duração média deste período.

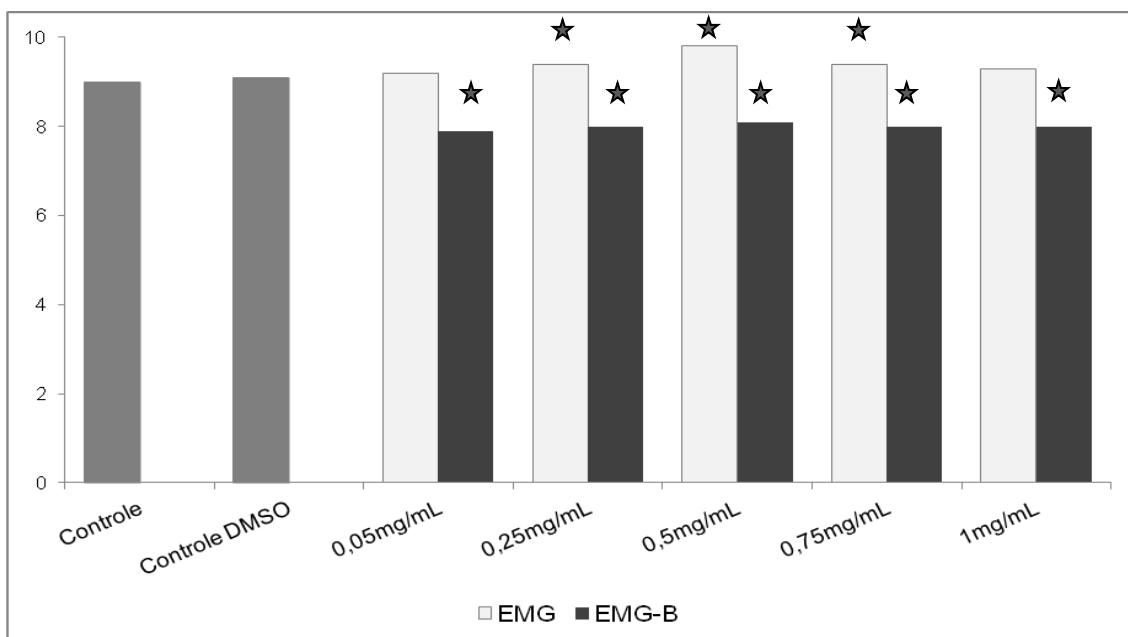


Figura 7 – Média da duração do período de neolarva a adulto (dias) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) e fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle. ★ - Diferença significativa para ambos os grupos controle.

Analisando as médias de peso, pode-se observar que os grupos controle e controle DMSO não diferem entre si mas apresentam diferença significativa em relação as cinco concentrações utilizadas para ambos os extratos (EMG e EMG-B) (Figura 8) (Tabela 4).

Quando comparadas as médias de peso das concentrações de EMG, observa-se que estas não apresentam diferença estatística, contudo, podemos destacar a concentração de 0,5mg/mL, porque apresentou o menor peso (37,0 mg) dentre todos os tratados de EMG e os dois grupos controle.

Analisando os resultados da EMG-B, nota-se que também ocorreu uma diminuição significativa nas médias do peso (quando confrontadas com os grupos controle), entretanto, esses valores são mais elevados que o do tratamento EMG. Podemos destacar as concentrações de 0,25 e 1mg/mL, que apresentaram as menores médias encontradas para o tratamento, com valores de 45,7 e 45,8mg, respectivamente, ainda assim, maiores que os valores de peso nas concentrações de EMG (Figura 8) (Tabela 4).

Tabela 4 – Peso das larvas maduras (mg) da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratadas com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controles, em condições de laboratório.

Grupos (Tratamentos)	EMG		EMG-B	
	$\chi \pm DP$	Min - Max	$\chi \pm DP$	Min - Max
Controle	52,3 \pm 3,5 _a	44 – 59	52,3 \pm 3,5 _a	44 – 59
Controle DMSO	51,9 \pm 2,6 _a	41 – 56	51,9 \pm 2,6 _a	41 – 56
0,05mg/mL	37,7 \pm 7,7 _b	17 – 46,7	47,3 \pm 8,2 _b	10,5 – 58
0,25mg/mL	41,0 \pm 6,6 _c	18 – 50,3	45,7 \pm 3,6 _b	37 – 56,5
0,5mg/mL	37,0 \pm 7,0 _b	18 – 51,7	47,1 \pm 5,0 _b	15 – 56
0,75mg/mL	38,1 \pm 8,2 _b	13 – 51	46,3 \pm 2,8 _b	40 – 57
1mg/mL	41,4 \pm 5,4 _c	25,3 – 53	45,8 \pm 5,0 _b	41 – 56,7

Sendo χ a média, DP o desvio padrão.

Letras distintas indicam médias diferentes entre si.

Quando comparadas as médias de peso das concentrações de EMG, observa-se que estas não apresentam diferença estatística, contudo, podemos destacar a concentração de 0,5mg/mL, porque apresentou o menor peso (37,0 mg) dentre todos os tratados de EMG e os dois grupos controle.

Analisando os resultados da EMG-B, nota-se que também ocorreu uma diminuição significativa nas médias do peso (quando confrontadas com os grupos controle), entretanto, esses valores são mais elevados que o do tratamento EMG. Podemos destacar as concentrações de 0,25 e 1mg/mL, que apresentaram as menores médias encontradas para o tratamento, com valores de 45,7 e 45,8mg, respectivamente, ainda assim, maiores que os valores de peso nas concentrações de EMG (Figura 8) (Tabela 4).

Simpson e Abisgold (1985) discutem que as características e a composição nutricional da dieta alimentar podem, de algum modo, influenciar na permanência do inseto em seu estágio larval. Anos mais tarde, Santos e Moya-Borja (1997) ressaltaram que o aumento ou a diminuição da permanência neste estágio pode vir a ser justificada pelo consumo de alimentos de baixa qualidade ou quantidade. Além disso, Chapman (1998) expôs que com a baixa ingestão de alimentos os estágios imaturos aumentam

a duração do seu desenvolvimento e se tornam menores e mais leves. Esses conceitos podem justificar o fato dos tratados com EMG apresentarem um prolongamento da permanência no estágio larval (Figura 5) (Tabela 1) e, ainda assim, apresentarem o menor peso (Figura 8) (Tabela 4). Esta substância, de algum modo, pode estar influenciando a absorção de nutrientes ou suprimindo a alimentação. As médias de peso obtidas no outro tratamento (EMG-B) também podem justificar essa hipótese, porque todas as concentrações apresentaram larvas mais leves e são estatisticamente diferentes dos grupos controle, mas apresentam uma redução na duração do período larval (Figura 5) (Tabela 2).

Carriço et al. (2014) apenas observaram redução na média de peso das larvas na maior concentração (25%) de *P. sapota*, enquanto as concentrações mais baixas apresentaram valores de peso mais elevados. O mesmo foi encontrado por Mendonça et al. (2011), que observaram uma variação nas médias obtidas, onde a concentração de 2% de *P. amapa* apresentou média superior e a concentração de 1% a menor média. Cabral et al. (2007) observaram que as substâncias yangambina, bruchelina e licarina (três das quatro neolignaninas testadas no estudo) apresentaram média de peso significativamente menores, corroborando os resultados encontrados nesse estudo para ambos os tratamentos.

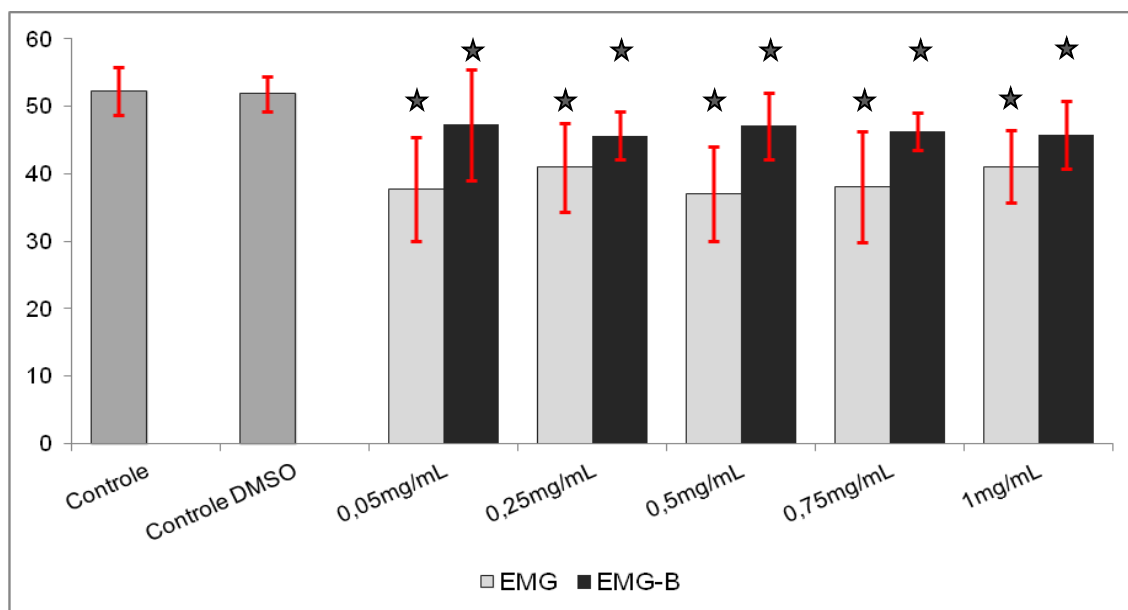


Figura 8 – Média e desvio padrão do peso das larvas maduras de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratadas com extrato metanólico dos galhos (EMG) e com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1 mg/mL e grupos controle, em condições de laboratório. ★ – Diferença significativa para ambos os grupos controle.

A eficácia do EMG sobre a mortalidade larval pode ser observada na figura 9. As concentrações apresentam diferença significativa de ambos os grupos controle, que apresentaram mortalidade de 2% (controle) e 10,9% (controle DMSO com correção da mortalidade). Em relação aos grupos tratados, destaca-se a concentração de 1mg/mL, que apresentou 45% de mortalidade após a aplicação da fórmula de correção de Abbott.

Considerando que o percentual da mortalidade é complementar ao percentual de viabilidade, Mendonça et al. (2011) encontraram uma menor viabilidade na maior concentração de *P. amapa*, o que corrobora o nosso estudo, entretanto seus testes apresentaram uma associação entre concentração e mortalidade, onde quanto maior a concentração maior a mortalidade encontrada.

Apesar do tratamento EMG 0,5mg/mL ter apresentado resultados mais significativos, quando analisados os dados referentes a duração dos estágios de desenvolvimento e peso das larvas maduras, observa-se que esses efeitos não causaram uma mortalidade larval elevada para essa concentração, que apresentou mortalidade corrigida de 29%.

Na figura 10 pode ser observada a eficácia da EMG-B sobre a mortalidade do período larval. Apenas as concentrações de 0,25 e 0,75mg/mL apresentam diferença significativa dos grupos controle, com mortalidade corrigida de 20,6 e 25,9%, respectivamente.

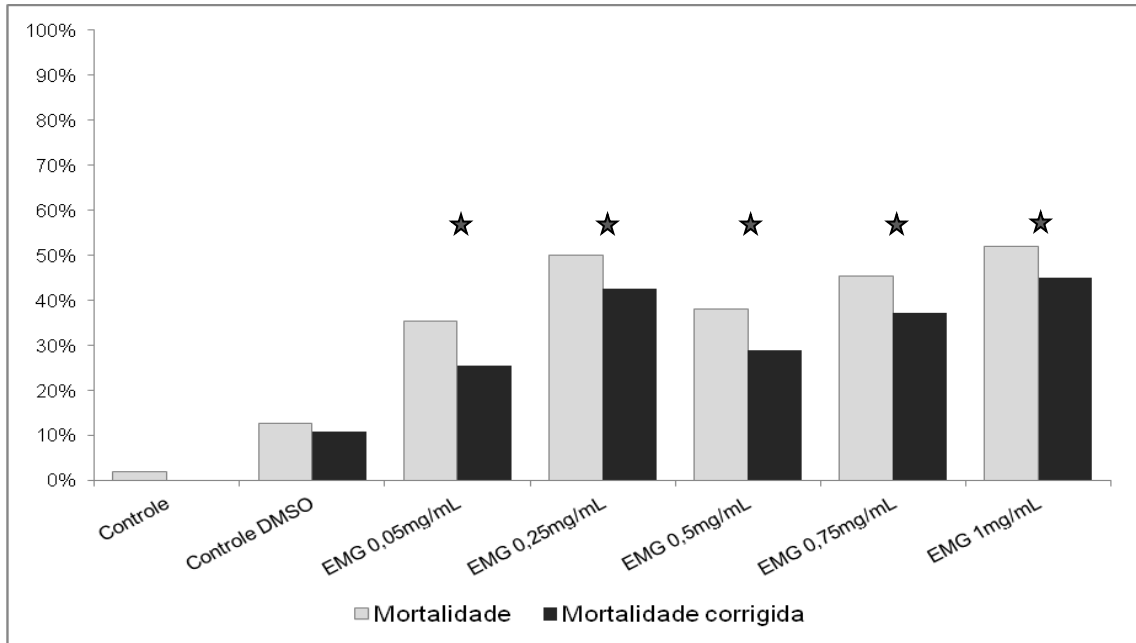


Figura 9 – Mortalidade e mortalidade corrigida (%), através da fórmula de Abbott, do período larval da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle, em condições de laboratório. ★ – Diferença significativa para ambos os grupos controle.

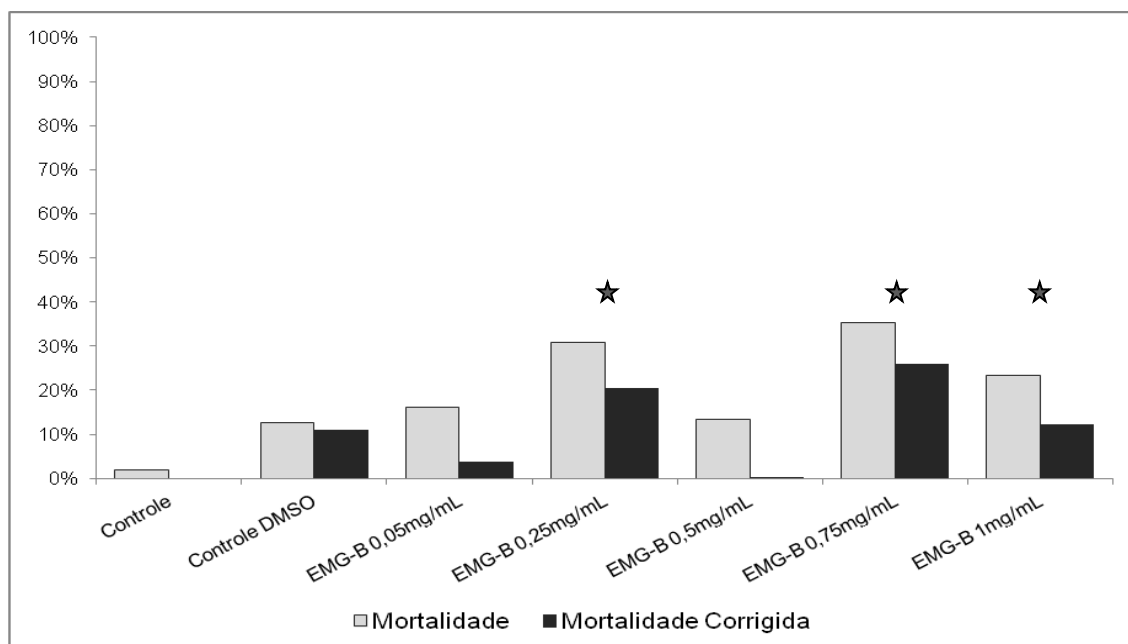


Figura 10 - Mortalidade e mortalidade corrigida (%), através da fórmula de Abbott, do período larval da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL, em condição de laboratório. ★- Diferença significativa para ambos os grupos controle.

A mortalidade do período pupal do EMG pode ser observada na figura 11. Nenhuma concentração apresentou diferença estatística quando comparada aos grupos controle. Apesar disso, pode ser observado que as concentrações de 0,05, 0,25, 0,5 e 0,75mg/mL apresentaram mortalidade causada pela aplicação do EMG. Pode-se destacar a concentração de 0,5mg/mL, que apresentou uma mortalidade corrigida de 12,5% e foi a concentração que apresentou a menor média de peso (Figura 8).

Queiroz e Milward-de-Azevedo (1991) e Von-Zuben (1998) realizaram um trabalho com *Chrysomya albiceps* e *C. megacephala*, respectivamente e constataram o peso mínimo necessário para que as larvas de cada espécie empupassem. Para *C. albiceps*, larvas que apresentaram peso entre 38,0 e 42,0mg empuparam, entretanto somente as larvas acima de 42,0mg originaram adultos. Já para *C. megacephala*, o valor mínimo de peso foi de 30,0mg. Em nosso experimento, foi observado que as concentrações acima citadas, apesar de terem uma média acima do valor proposto pelo autor, apresentavam alguns pesos individuais abaixo de 30,0mg, como pode ser

observado na tabela 4. Deste modo, podemos hipotetizar que a substância pode estar afetando o peso do inseto e que os adultos que não emergiram das pupas são aqueles cujos imaturos não atingiram o peso mínimo para completar seu desenvolvimento.

Quanto à mortalidade encontrada no período pupal para os insetos tratados com a EMG-B (Figura 12), não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos tratados e os grupos controle. Entretanto, chamamos a atenção para as concentrações de 0,25 e 0,75mg/mL, que mesmo não se diferenciando estatisticamente do grupo controle e controle DMSO, elas apresentaram uma mortalidade mesmo após a aplicação da fórmula de correção de Abbott.

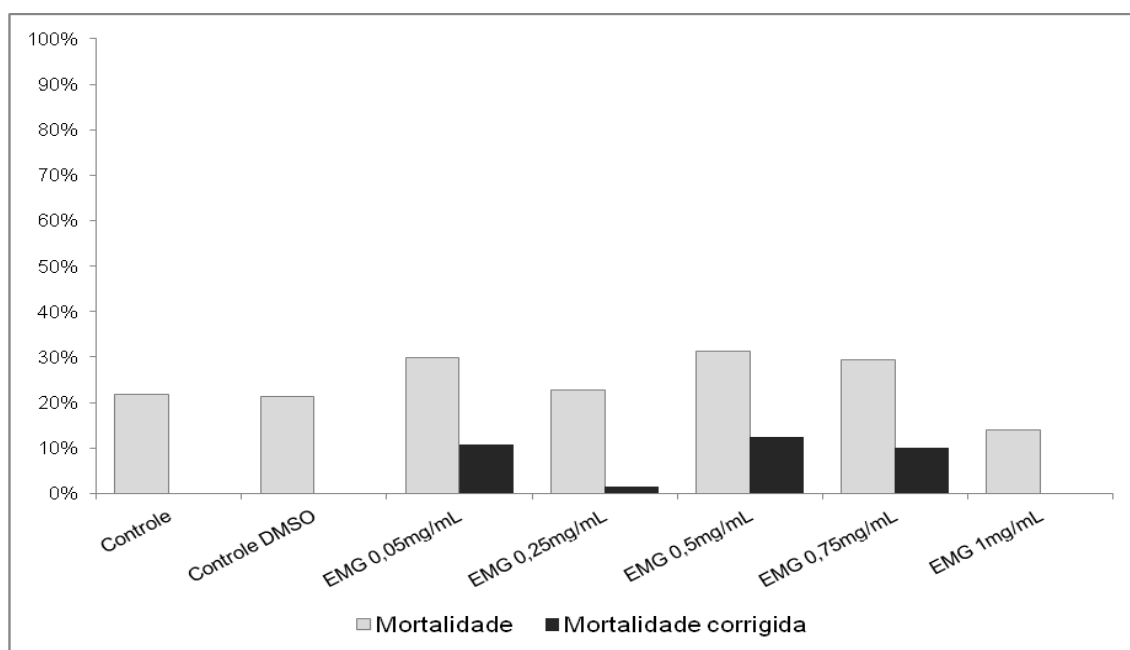


Figura 11 - Mortalidade e mortalidade corrigida (%), através da fórmula de Abbott, do período pupal da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle, em condições de laboratório. ★ - Diferença significativa para ambos os grupos controle.

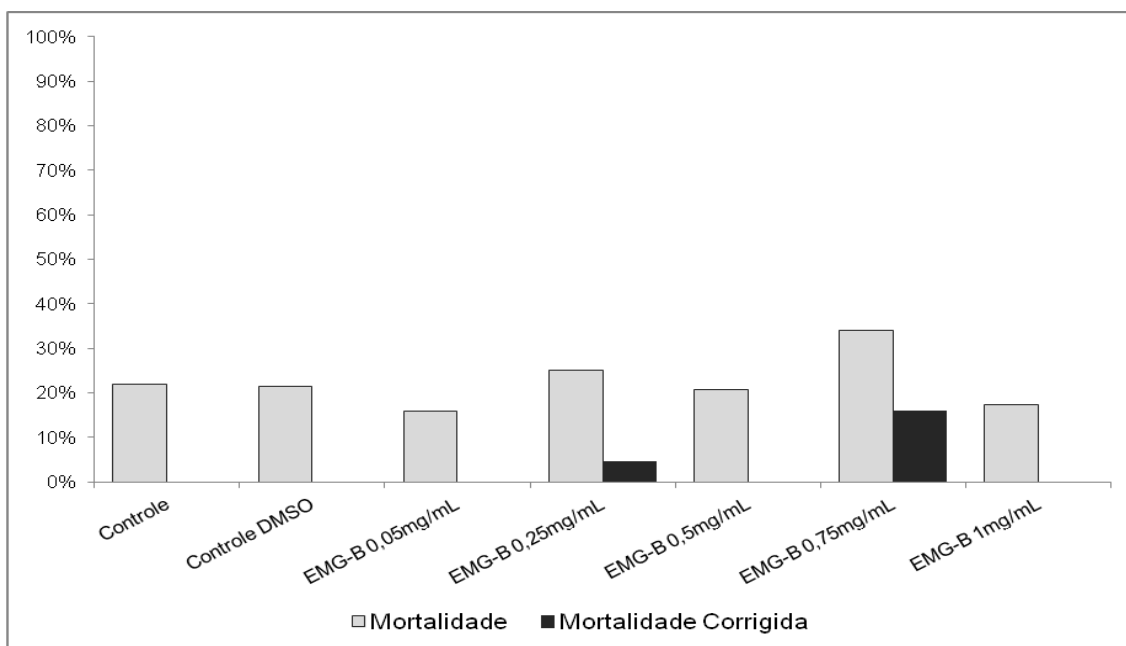


Figura 12 - Mortalidade e mortalidade corrigida (%), através da fórmula de Abbott, do período pupal da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL, em condição de laboratório. ★- Diferença significativa para ambos os grupos controle.

Outro parâmetro apresentado por d’Almeida et al. (2001) como um dos mais adequados quando se avalia o efeito de novas metodologias seria a viabilidade e/ou mortalidade do período de neolarva a adulto, pois este parâmetro também previne possíveis alterações existentes entre os estágios larval e pupal.

Deste modo, avaliando o efeito do EMG sobre a mortalidade de neolarva a adulto, pode-se observar que todas as concentrações apresentaram um aumento e se diferenciaram significativamente dos grupos controle (23,3%) e controle DMSO (10,4%). Entre si, as concentrações não apresentaram diferença significativa, entretanto podemos destacar as concentrações de 0,25 e 0,75mg/mL, que apresentaram mortalidade corrigida de 43,1% seguidas pela concentração de 1mg/mL, com mortalidade corrigida de 39,3% (Figura 13).

Para a mortalidade do período de neolarva a adulto com a EMG-B, a diferença significativa só ocorre entre os grupos controle e as concentrações de 0,25 e 0,75mg/mL, que apresentaram mortalidade corrigida de 33,4 e 25,4%, respectivamente (Figura 14).

Mendonça et al. (2011) observaram em seu estudo que a maior concentração (25%) aplicada apresentou menor viabilidade (ou maior mortalidade). Carriço et al. (2014), também observaram em seu estudo um efeito sobre a viabilidade de neolarva a adulto, entretanto, sua maior concentração não apresentou valores mais significativos que suas concentrações mais baixas.

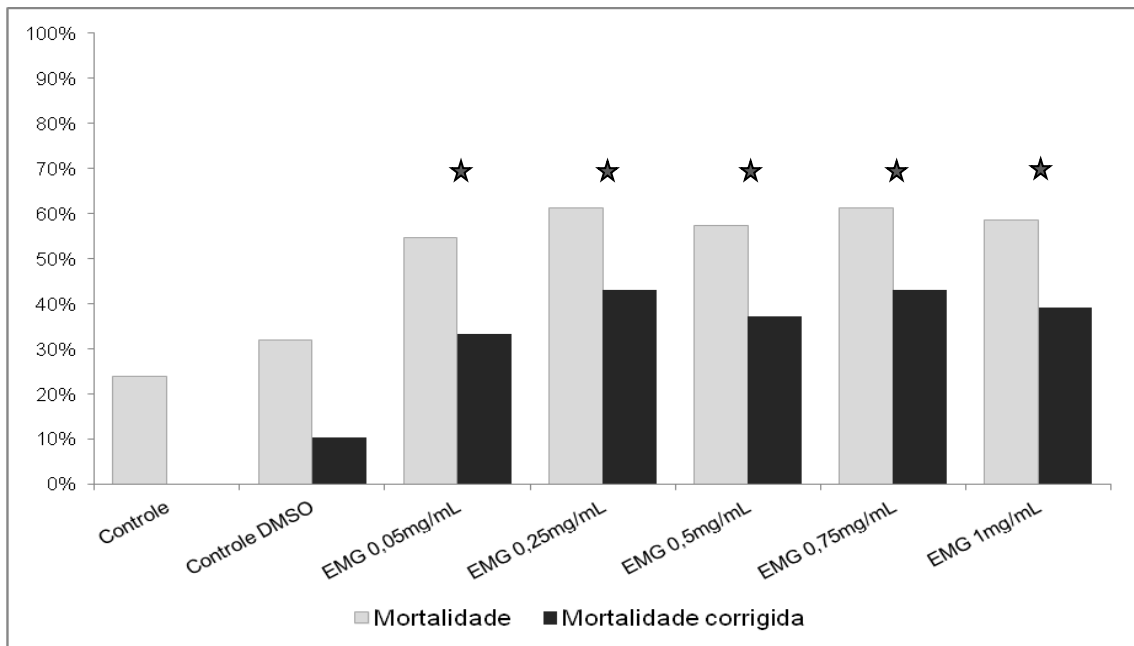


Figura 13 - Mortalidade e mortalidade corrigida (%) através da fórmula de Abbott do período de neolarva a adulto da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com extrato metanólico dos galhos (EMG) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL e grupos controle, em condições de laboratório. ★ - Diferença significativa para ambos os grupos controle.

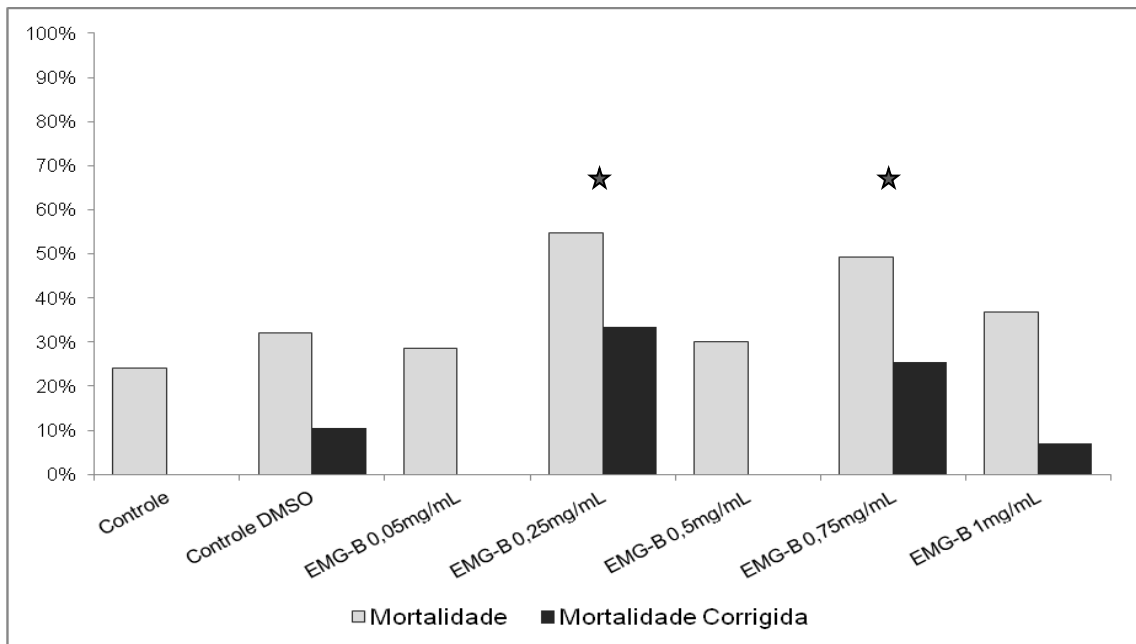


Figura 14 - Mortalidade e mortalidade corrigida (%), através da fórmula de Abbott, do período de neolarva a adulto da espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) tratada com fração em butanol do extrato metanólico dos galhos (EMG-B) de *Eugenia copacabanensis* (Myrtaceae) nas concentrações de 0,05, 0,25, 0,5, 0,75 e 1mg/mL, em condição de laboratório. ★- Diferença significativa para ambos os grupos controle.

Tanto o EMG quando a EMG-B apresentaram efeitos sobre o peso e o desenvolvimento pós-embrionário da espécie *Chryomya putoria*. Contudo, ainda torna-se necessária uma melhor avaliação dos óleos essenciais e seus constituintes, uma vez que possam ser tóxicos para vegetais e outros invertebrados (e.g. Abelhas) (Isman 2000).

CONCLUSÃO

- ✓ Ambos os extratos se mostraram eficazes sobre o ciclo pós-embrionário de *Chrysomya putoria*;
- ✓ O extrato metanólico dos galhos afetou negativamente o peso médio e isso levou a um aumento na duração dos períodos de desenvolvimento pós-embrionário;
- ✓ A fração em butanol também afetou negativamente o peso, entretanto diminuiu a duração dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário;
- ✓ O extrato metanólico demonstrou melhor resultado na mortalidade do período larval e de neolarva a adulto de *Chrysomya putoria*;
- ✓ Este trabalho demonstra que é possível utilizar esses extratos como uma forma de controle de dípteros muscoides;
- ✓ Torna-se necessária a investigação mais completa de ambos os extratos, como identificação da composição e do princípio ativo e comparação com outras regiões da planta para futuros testes no controle de insetos vetores.

REFERÊNCIAS

- Abbott WS. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-266.
- Aguiar Coelho VM, Milward de Azevedo EMV. 1998. Combined Rearing of *Cochliomyia macellaria* (Fabr.), *Chrysomya megacephala* (Fabr.) and *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Dipt., Calliphoridae) under Laboratory Conditions. *Journal of Applied Entomology* 122: 551-554.
- Aguiar Menezes EL, Menezes EB. Bases Ecológicas das Interações entre Insetos e Plantas no Manejo Ecológico de Pragas Agrícolas. In: Aquino AM; Assis RL (Ed.). *Agroecologia: Princípios e técnicas para uma agricultura orgânica Sustentável*. Brasília, DF; Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 323-339.
- Baumgartner DL, Greenberg B. 1984. The Genus *Chrysomya* (Diptera:Calliphoridae) in the New World. *Journal of Medical Entomology* 21 (1): 105-113.
- Barros Cordeiro KB, Pujol-Luz JR. 2010. Morfologia e Duração do Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em Condições de Laboratório. *Papéis Avulsos de Zoologia* 50 (47): 709-717.
- Batista da Silva JA, Moya-Borja GE, Queiroz MMC. 2010. Ocorrência e Sazonalidade de Muscoides (Diptera: Calliphoridae) de Importância Sanitária no Município de Itaboraí, RJ, Brasil. *EntomoBrasilis* 3 (1): 16-21.
- Boulogne I, Petit P, Ozier Lafontaine H, Desfontaines L, Loranger Merciris G. 2012. Insecticidal and Antifungal Chemicals Produced by Plants: a review. *Environmental Chemical Letters* 10: 325-347.
- Brechelt A. *O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças*. Rio Grande do Sul: Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor. 2004.

Buss EA, Park-Brown SG. 2002. Natural Products for Managing Landscape and Garden Pest in Florida. IFAS Extension - University of Florida Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/in197>> acesso em: Junho de 2014.

Cabral MMO, Mendonça PM, Gomes CMS, Barbosa Filho JM, Queiroz MMC, Mello RP. 2007. Biological Activity of Neolignans on the Post-embryonic Development of *Chrysomya megacephala*. Fitoterapia 78: 20-24.

Carraro VM, Milward de Azevedo EMV. 1999. Quantitative Description of Calliphorid Dipterans Captured on the Campus of the Federal Rural University of Rio de Janeiro Using Sardine Bait. Revista Brasileira de Zootecias 1 (1): 77-89.

Carriço C, Pinto ZT, Dutok, CMS, Caetano RL, Pessanha RR, Chil-Nuñez I, Mendonça PM, Escalona-Arranz JC, Reyes-Tur B, Queiroz MMC. 2014. Biological Activity of *Pouteria sapota* Leaf Extract on Post-embryonic Development of Blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). Revista Brasileira de Farmacognosia 24: 304-308.

Carvalho WA. 1991. Fatores de Riscos Relacionados com Exposição Ocupacional e Ambiental a Inseticidas Organoclorados no Estado da Bahia, Brasil, 1985. Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana 111 (6): 512-524.

Carvalho-Júnior AR, Gomes GA, Ferreira RO, Carvalho MG. 2014. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de Folhas e Galhos de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae). Química Nova 37 (3): 477-482.

Casida JE, Quistad GB. 1998. Golden Age of Insecticide Research: past, present, or future?. Annual Review of Entomology 43: 1-16.

Cassaniti C, Leonard C, Flowers T. 2009. The Effect of Sodium Chloride on Ornamental Shrubs. Scientia Horticulturae 122: 586-593.

Cathouse JA. 2002. Plant Resistance Toward Insect Herbivores: a dynamic interaction. New Phytologist 156: 145-169.

Champan RF. The Insects: structure and function 4th edition. Cambridge: Cambridge University Press. 1998.

Corrêa EC, Koller WW, Barros ATM. 2010. Abundância Relativa e Sazonalidade de Espécies de *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Pantanal Sul-Mato-Grossense, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 19 (2): 85-88.

Costa ELN, Silva RFP, Fiuza LM. 2004. Efeitos, Aplicações e Limitações de Extratos de Plantas Inseticidas. Acta Biológica Leopoldensia 26 (2): 173-185.

Courtney GW, Pape T, Skevington JH, Sinclair BJ. Biodiversity of Diptera In: Footitt R, Adler P (Ed.) Insect Biodiversity: science and society. 1th edition. Blackwell Publishing. 2009. 185-222.

d'Almeida JM. 1983. Sinantropia em Dípteros Caliptrados na Área Metropolitana do Rio de Janeiro. Tese (Mestrado em Ciências – Parasitologia Veterinária) – Programa de Pós- Graduação em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ.

d'Almeida JM, Ferro CL, Fraga MB. 2001. Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae) em Dietas Artificiais. Acta Biológica Leopoldensia 23 (1): 25-30.

d'Almeida JM, Fraga MB. 2007. Efeitos de Diferentes Iscas na Atração de Califorídeos (Diptera) no Campus do Valonguinho, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 16 (4): 199-204.

Dear JP. 1985. A Revision of the New World Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). Revista Brasileira de Zoologia 3 (3): 109-169.

Faria LDB, Orsi L, Trinca LA, Godoy WAC. 1999. Larval Predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. Entomologia Experimentalis et Applicata 90: 149-155.

Freitas MG, Costa HMA, Cortz JO, Lide P. Entomologia e Acarologia Médica e Veterinária. 4ª ed. São Paulo: Editora Nobel. 1978.

Funasa. Controle de Vetores: procedimentos de segurança. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

Furlanetto SMP, Campos MLC, Harsi CM, Buralli GM, Ishihata GK. 1984. Microrganismos Enteropatogênicos em Moscas Africanas Pertencentes ao Gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. Revista de Microbiologia, 15 (3):170-174.

Gallos D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Baptista GC, Berti-Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C. Entomologia Agrícola. Piracicaba: Editora FEALQ. 2002.

Gomes CMS, d'Almeida JM, dos Santos JAA. 2003. Avaliação do Efeito do Látex de *Euphorbia splendens* Var. *hislopii* (N.E.B) (Euphorbiaceae), no Desenvolvimento Pós Embrionário de *Peckya chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Diptera Sarcophagidae), em Condições de Laboratório. Entomogía y Vectores 10 (1): 99-108.

Greenberg B. Flies and Disease. Vol. I: Ecology, Classification and Biotic Association. New Jersey: Princeton Univ. Press. 1971.

Greenberg B. Flies and Disease. Vol. II: Biology and Diseases Transmission. New Jersey: Princeton Univ. Press. 1973.

Guimarães JH. 1983. Moscas: biologia, ecologia e controle. Agroquímica 21: 20 – 26.

Guimarães JH, Papavero N. Myiasis in Man and Animals in the Neotropical Region. São Paulo: Editora Plêiade. 1999.

Guimarães JH, Prado AP, Buralli GM. 1979. Dispersal and Distribution of three Newly Introduced Species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). Revista Brasileira de Entomologia 23 (4): 245 – 255.

Guimarães JH, Prado AP, Linhares AX. 1978. Three Newly Introduced Blowfly Species in Southern Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 22 (1): 53 – 60.

Gullan PJ, Cranston PS. *Os Insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo: Rocca, 2005.

Huber F, Barros LA. 2002. Frequência de Moscas (Diptera, Cyclorhapha) de Importância Médico Veterinária no Zoológico da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Brasil. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR* 5 (2): 187-191.

Imbiriba AS, Izutani DT, Milhoreto IT. 1977. Introdução de *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na Região Neotropical (Diptera, Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 20 (1): 35-39.

Isman MB. 1997. Neem and Other Botanical Insecticides: barriers to commercialization. *Phytoparasitica* 25 (4): 339-344.

Isman MB. 2000. Plant Essential Oils for Pest and Disease Management. *Crop Protection* 19: 603-608.

Isman MB. 2005. Botanical Insecticides, Deterrents and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. *Annual Review of Entomology* 51: 45-66.

Jeyaratman J. Occupational health issues in developing countries. In: Organização Mundial da Saúde. *Public health impact of pesticides used in agriculture*. Geneva, 1990, p. 207-212.

Junges, MJ, Fernandes JB, Vieira PC, da Silva MFGF, Filho ER. 1999. The Use of ¹³C and ¹H-NMR in the Structural Elucidation of a New Nor-Lupane Triterpene. *Journal of Brazilian Chemistry Society* 10 (4): 317-320.

Landrum LR, Kawasaki ML. 1997. The Genera of Myrtaceae in Brazil: an illustration synoptic treatment and identification keys. *Brittonia* 49 (4): 508-536.

Laurence BR. 1981. Geographical expansion of the Range of *Chrysomya* Blowflies. *Transitions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 75 (1): 130 – 131.

Laurence BR. 1986. Old World Blowflies in the New World. *Parasitology Today* 2 (3): 77 – 79.

Lenko K, Papavero N. *Insetos no Folclore*. 2ª Ed. São Paulo: Editora Fapesp. 1996.

Lima MLPS, Luz E. 1991. Espécies Exóticas de *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) como Veiculadoras de Enterobactérias Patogênicas em Curitiba, Paraná, Brasil. *Acta Biológica Paranaense* 20 (1, 2, 3, 4): 61-83.

Magina MDA, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Brighente IMC. 2009. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Eugenia* species. *Journal of Natural Medicine* 63: 345-350.

Mahmoud II, Marzouk MSA, Moharram FA, El-Gind MR, Hassan AMK. 2001. Acylated Flavonol Glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. *Phytochemistry* 58: 1239-1244.

Manoharan KP, Song FJ, Benny TKH, Yang D. 2007. Triterpenoids from *Eugenia grandis*: structure elucidation by NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry* 45: 279-281.

Marinho CR, Barbosa LS, Azevedo AC, Queiroz MMCQ, Valgode MA, Aguiar-Coelho VM. 2006. Diversity of Calliphoridae (Diptera) in Brazil's Tinguá Biological Reserve. *Brazilian Journal of Biology* 66 (1A): 95-100.

Mello RP. 2003. Chave para a Identificação das Formas Adultas das Espécies da Família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorhapha) Encontradas no Brasil. *Entomología y Vectores* 10 (2): 255-268.

Mello RP, Gredilha R, Guimarães Neto EG. 2004. Dados Preliminares sobre Sinantropia de Califorídeos (Diptera: Calliphoridae) no Município de Paracambi–RJ. Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida 24 (2): 97-101.

Mello RS, Ferreira ARS, Queiroz MMC. 2010. Bioactivity of Latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (Euphorbiaceae) on Post-embryonic Development of *Megaselia scalaris* (Phoridae). Veterinary Entomology 172: 100-104.

Mendonça PM, Lima MG, Albuquerque LRM, Carvalho MG, Queiroz MMC. 2011. Effects of Latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on Blowfly *Chysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) Post-embryonic Development. Veterinary Entomology 178: 379-382.

Moreira MD, Picanço MC, Silva EM, Moreno SC, Martins JC. Uso de Inseticidas Botânicos no Controle de Pragas. In: Venzon M, Paula Junior TJ, Palini A. Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Minas Gerais: Editora UFV. Capítulo 5: 89-120. 2006.

Oliveira AM, Humberto MMS, da Silva JM, de Almeida-Rocha RF, Sant’ana, AEG. 2006. Estudo Fitoquímico e Avaliação das Atividades Moluscida e Larvicida dos Extratos da Casca do Caule e Folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 16: 618-624.

Organização Pan-Americana de Saúde. Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília, Brasil. 69 pg. 1997.

Prado ÂP. 2003. Controle das Principais Espécies de Mosca em Áreas Urbanas. Biológico 65 (1, 2): 95-97.

Prado AP, Guimarães JH. 1982. Estado Atual de Dispersão e Distribuição do Gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy na Região Neotropical (Diptera, Calliphoridae). Revista Brasileira de Entomologia 26 (3/4): 225 – 231.

Queiroz MMC, Milward-de-Azevedo, EMV. 1991. Técnicas de Criação e Alguns Aspectos da Biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), em Condições de Laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia* 8 (1-4): 75-84.

Rattan RS. 2010. Mechanism of Action of Insecticidal Secondary Metabolites of Plant Origin. *Crop Protection* 29: 913-920.

Rey L. Bases da Parasitologia Médica. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 2010.

Roel AR. 2001. Utilização de Plantas com Propriedades Inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local* 1 (2): 43-50.

Saito ML. As Plantas Praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. Jaguariúna: Embrapa. 2004.

Santos MJP, Moya-Borja GE. 1997. Estudo Comparado do Desenvolvimento Pós-embrionário de *Fannia pusio* (Wied., 1830) (Diptera, Fanniidae), em Diferentes Substratos. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 40 (2): 253-261.

Schuller L. 2000. As Moscas Domésticas e sua Importância na Transmissão de Intoxicações e Infecções Alimentares. *Higiene Alimentar* 14 (73): 28-38.

Serra-Freire NM, Mello RP. Entomologia e Acarologia na Medicina Veterinária. Rio de Janeiro: Editora L. F. Livros. 2006.

Simpson SJ, Abisgold ID. 1985. Competition of locus for mechanisms. *Physiological Entomology* 10: 443-452.

Sobral M, Proença C, Souza M, Mazine F, Lucas E. *Myrtaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10338>>. Acesso em: 28 de Outubro de 2014.

Viegas-Júnior C. 2003. Terpenos com Atividade Inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova* 26 (3): 390-400.

Vieira PC, Mafezoli J, Biavatti MW. Inseticidas de Origem Vegetal. In: Ferreira JTB, Corrêa AG, Vieira PC. (org.). Produtos Naturais no Controle de Insetos. 1ª ed. São Carlos: Editora da UFSCar. Cap. 2: 23–45. 2001.

Von-Zuben CJ. 1998. Comportamento de Oviposturas Individuais, Percentagem de Eclosão e Peso Larval Mínimo para Pupação em Populações de *Chrysomya megacephala* (F.). Anais da Sociedade Entomológica Brasileira 27 (4): 525- 533.

Wiesbrook ML. 2004. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? Illinois Pesticide Review 17: 3.

Yang LL, Lee CY, Yen KY. 2000. Induction of Apoptosis by Hydrolysable Tannins from *Eugenia jambos* L. on Human Leukemia Cells. Cancer Letters 157: 65-75.

Zumpt F. Myiasis in Man and Animals in the Old World. Londres: Butterworths. 267p. 1965.