

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Avaliação da atividade inseticida e repelente *in vitro* de  
óleos essenciais de plantas do gênero *Cymbopogon* e do  
constituínte majoritário geraniol contra *Ctenocephalides*  
*felis felis***

**Jéssica Karoline de Oliveira Chaves**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Avaliação da atividade inseticida e repelente *in vitro* de óleos essenciais de plantas do gênero *Cymbopogon* e do constituinte majoritário geraniol contra *Ctenocephalides felis felis***

**Jéssica Karoline de Oliveira Chaves**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Dr. Fabio Barbour Scott**

*e Coorientação*  
**Dr. Diefrey Ribeiro Campos**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Veterinárias**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Seropédica, RJ  
Setembro de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com  
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C512a Chaves, Jéssica Karoline de Oliveira, 1995  
Avaliação da atividade inseticida e repelente in vitro de óleos essenciais de plantas do gênero cymbopogon e do constituinte majoritário geraniol contra Ctenocephalides felis felis / Jéssica Karoline de Oliveira Chaves. - Rio de Janeiro, 2022. 116 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Coorientador: Diefrey Ribeiro Campos.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de pós graduação em ciências veterinárias, 2022.

1. Pulga. 2. Biocontrole. 3. Citronela. 4. Capim limão da Índia oriental. 5. Palmarosa. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-, orient. II. Campos, Diefrey Ribeiro , 1988-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de pós graduação em ciências veterinárias. IV. Titulo.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ATA N° 4675/2022 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.060478/2022-35

Seropédica-RJ, 28 de setembro de 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

JÉSSICA KAROLINE DE OLIVEIRA CHAVES

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestra em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/09/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese/dissertação.

(Assinado digitalmente em 28/09/2022 19:12) (Assinado digitalmente em 16/09/2023 10:24)

FABIO BARBOUR SCOTT

LIVIO MARTINS COSTA JUNIOR

DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)

CPF: ####.###.563-##

Matrícula: ###736#0

(Assinado digitalmente em 07/02/2023 11:28)

BARBARA RAUTA DE AVELAR

CPF: ####.###.647-##

À minha família e amigos

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pelo dom da vida e por Ele estar presente em toda ela, guiando todas as minhas escolhas.

À minha filha, Maria Luiza Chaves Valério, por ser minha maior fonte de incentivo desde a gravidez.

Ao meu marido, Raphael Lopes Valério, por todo apoio durante todas as etapas da minha vida, sempre repleto de amor, carinho, atenção e paciência com as minhas dificuldades.

Aos meus pais, Isabel Cristina de Oliveira Chaves e Gildálio Rocha Chaves que, com muito amor e dedicação, incentivaram os meus estudos. Serei eternamente grata, pois mesmo nas horas difíceis ou tomadas pelo desânimo e cansaço, nunca me deixaram desistir.

Aos meus avós, Neuza Cardoso de Oliveira e Gelson Freitas de Oliveira, que sempre me apoiaram, incentivaram e fizeram de tudo por mim.

À toda minha família, por todo apoio e pela valiosa presença na minha vida.

Ao meu orientador, Fabio Barbour Scott, por todas as orientações e ensinamentos, todas fundamentais para a minha evolução. Agradeço pela oportunidade e por ter acreditado em mim para a realização deste trabalho.

Ao meu grande amigo, Diefrey Ribeiro Campos, que compartilhou sua sabedoria durante todos esses anos e estendeu a sua mão em todos os momentos, sem a sua ajuda nada disso seria possível. Obrigada por todo apoio, estímulo, paciência e por acreditar no meu potencial de ser melhor.

À toda equipe do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, em especial Barbara Rauta de Avelar e Débora Azevedo Borges, por toda paciência, conhecimento e ajuda compartilhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo apoio financeiro recebido para a realização deste trabalho.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

Todos foram fundamentais nesse período, sem ordem de preferência, e eu só tenho a agradecer por toda ajuda concedida. Muito obrigada e podem contar sempre comigo.

## **BIOGRAFIA**

Jéssica Karoline de Oliveira Chaves, filha de Isabel Cristina de Oliveira Chaves e Gildázio Rocha Chaves, mãe de Maria Luiza Chaves Valério, esposa de Raphael Lopes Valério, nascida em 19 de setembro de 1995, no município de Rio de Janeiro-RJ. Cursou o ensino Fundamental no Colégio e Curso Futuro Vip e o ensino médio na Escola Técnica Estadual Juscelino Kubitschek - ETEJK/FAETEC, ambas localizadas na cidade do Rio de Janeiro-RJ. No segundo semestre do ano de 2014 ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), graduando-se Médica Veterinária no ano de 2020. Durante toda a graduação participou de cursos e eventos acadêmicos. Foi estagiária no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) e bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq desde o quarto período acadêmico, sob a orientação do professor Dr. Fabio Barbour Scott. No ano de 2020, foi aprovada no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, no nível de Mestrado, sob orientação do Professor Dr. Fabio Barbour Scott e Coorientação do Professor Dr. Diefrey Ribeiro Campos, sendo bolsista CNPq entre março de 2020 a fevereiro de 2022.

## RESUMO

CHAVES, Jéssica Karoline de Oliveira. **Avaliação da atividade inseticida e repelente *in vitro* de óleos essenciais de plantas do gênero *Cymbopogon* e do constituinte majoritário geraniol contra *Ctenocephalides felis felis*.** 2022. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

A pulga *Ctenocephalides felis felis* trata-se da subespécie com maior prevalência nos animais domésticos. A busca por moléculas naturais e com menor impacto sobre a saúde humana, animal e ao ambiente para o controle desse ectoparasito vêm aumentando nos últimos anos, como a utilização de óleos essenciais (OE's). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inseticida, repelente e na interrupção do ciclo biológico (ICB) dos OE's de *Cymbopogon nardus* (OECN), *C. winterianus* (OECW), *C. flexuosus* (OECF) e *C. martinii* (OECM), e do geraniol, além de determinar as concentrações letais (CL) 50 e 90 e a eficácia residual *in vitro*, frente as formas evolutivas de *C. felis felis*. A análise da composição química foi feita por Cromatografia Gasosa equipado com detector de ionização por chama, e um injector split / split-less para separar e detectar os constituintes dos OE's. Os exemplares foram oriundos da colônia laboratorial de pulgas do LQEPV. Para os ensaios, foram realizadas diluições seriadas (1:2) a partir da maior concentração dos OE's, utilizando acetona 20%. Para a atividade inseticida, foram utilizados 10 ovos, larvas, pupas e adultos. Também foram utilizados dez ovos para a avaliação da ICB e, para o teste de repelência e eficácia residual, foram utilizados dez adultos. As fases imaturas foram alocadas em placas de petri (60 x 15mm) e foi inserido um disco de papel filtro (51mm de diâmetro) impregnado com uma determinada concentração da solução avaliada, já os adultos foram alocados em tubos de ensaio (1 x 10cm) e foi inserida uma fita de papel filtro (1 x 10 cm) impregnada com as mesmas concentrações. O controle dos testes foi realizado com acetona 20% e todo ensaio foi realizado em sextuplicata. A leitura do teste inseticida foi realizada com 72 horas, 24 horas e 15 dias para ovos, larvas e pupas, respectivamente, já para os adultos, foi realizada com 24 e 48 horas. No ensaio de ICB, a quantificação de adultos emergidos do pupário foi realizada 30 dias após a incubação dos ovos. No ensaio de repelência, as leituras ocorreram com 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas após o desafio. Os dados foram tabulados e os valores da CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> foram calculados estatisticamente por meio da análise Probit, utilizando o programa IBM SPSS Statistics com intervalo de confiança de 95%. Os constituintes majoritários identificados foram citronelal para o OECN e OECW, α-Citral para OECF e geraniol para OECM. O geraniol apresentou a maior atividade inseticida contra ovos ( $CL_{50} = 14,7 \mu\text{g/cm}^2$ ), pupas ( $CL_{50} = 47,1 \mu\text{g/cm}^2$ ) e adultos ( $CL_{50} = 84,6 \mu\text{g/cm}^2$ ), enquanto OECM demonstrou para larvas ( $CL_{50} = 19,4 \mu\text{g/cm}^2$ ). Os OE's e o geraniol apresentaram atividade repelente na concentração de 800  $\mu\text{g/cm}^2$ , com maior prolongamento de eficácia demonstrada pelo OECM (percentual de repelência = 92,9% em 48 horas). O OECM e o geraniol apresentaram maior eficácia residual (26 dias) quando comparados aos outros. Em suma, conclui-se que os OE's utilizados e o geraniol apresentaram eficácia frente *C. felis felis* em todos os testes executados.

**Palavras-chave:** Pulga. Biocontrole. Citronela.

## ABSTRACT

CHAVES, Jéssica Karoline de Oliveira. **Evaluation of the *in vitro* insecticidal and repellent activity of essential oils of plants of *Cymbopogon* genus and the major constituent geraniol against *Ctenocephalides felis felis*.** 130f. Dissertation (Master Science). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The flea *Ctenocephalides felis felis* is the most prevalent subspecies in domestic animals. The search for natural molecules with less impact on human, animal and environment health to control this ectoparasite has been increasing in recent years, such as the use of essential oils (EO's). The objective of this work was to evaluate the insecticidal, repellent and biological cycle interruption (ICB) activity of the EO's of *Cymbopogon nardus* (OECN), *C. winterianus* (OECW), *C. flexuosus* (OECF) and *C. martini* (OECM), and of the geraniol component, in addition to determining the lethal concentrations (CL) 50 and 90 and residual efficacy *in vitro*, against different evolutionary forms of *C. felis felis*. Chemical composition analysis was performed by Gas Chromatography equipped with a flame ionization detector (FID), and a split/split-less injector to separate and detect essential oil constituents. All specimens came from the LQEPV laboratory flea colony. For the *in vitro* tests, serial dilutions (1:2) were performed from the highest concentration of EO's, using 20% acetone. For the insecticidal activity, 10 eggs, larvae, pupae and adults were used. Ten eggs were also used to evaluation of ICB and, for the repellency and residual efficacy test, ten adult fleas were used. The immature phases were placed in petri dishes (60 x 15mm) and a filter paper disc (51mm in diameter) impregnated with a certain concentration of the evaluated solution was inserted, while the adults were placed in test tubes (1 x 10cm) and a filter paper strip (1 x 10 cm) impregnated with the same concentrations was inserted. Test control was performed with 20% acetone and the entire test was performed in sextuplicate. The reading of the insecticide test was performed at 72 hours, 24 hours and 15 days for eggs, larvae and pupae, respectively, and for adults, it was performed at 24 and 48 hours. In the ICB assay, the quantification of adults emerged from the puparium was performed 30 days after egg incubation. In the repellency test, the readings occurred at 1, 3, 6, 12, 24 and 48 hours after the challenge. Data were tabulated and LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values were statistically calculated using Probit analysis, using the IBM SPSS Statistics program with a 95% confidence interval. The major constituents identified were citronellal for OECN and OECW, α-Citral for OECF and geraniol for OECM. Geraniol showed the highest insecticidal activity against eggs (LC<sub>50</sub> = 14.7 µg/cm<sup>2</sup>), pupae (LC<sub>50</sub> = 47.1 µg/cm<sup>2</sup>) and adults (LC<sub>50</sub> = 84.6 µg/cm<sup>2</sup>), while OECM showed it for larvae (LC<sub>50</sub> = 19.4 µg/cm<sup>2</sup>). The EO's and the geraniol showed repellent activity at a concentration of 800 µg/cm<sup>2</sup>, with a greater prolongation of effectiveness demonstrated by the OECM (repellence percentage = 92.9% in 48 hours). OECM and geraniol showed greater residual efficacy (26 days) when compared to the others. In short, it is concluded that the EO's used and geraniol were effective against *C. felis felis* in all tests performed.

**Keywords:** Flea. Biocontrol. citronella.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cultivo da espécie <i>Cymbopogon nardus</i> . Fonte: IndiaMART, 2022.....	28
<b>Figura 2.</b> Estrutura química do citronelal, citronelol e geraniol, compostos majoritários do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> . Fonte: BORGES et al., 2021.....	29
<b>Figura 3.</b> Cultivo da espécie <i>Cymbopogon winterianus</i> . Fonte: Ekonativa, 2022. ....	30
<b>Figura 4.</b> Estrutura química do citronelal, citronelol, geraniol e elemol, compostos majoritários do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> . Fonte: BORGES et al., 2021.....	31
<b>Figura 5.</b> Cultivo da espécie <i>Cymbopogon flexuosus</i> . Fonte: IndiaMART, 2022.....	33
<b>Figura 6.</b> Estrutura química do $\beta$ -Citrал e $\alpha$ -Citrал, compostos majoritários do óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> . Fonte: BORGES et al., 2021. ....	34
<b>Figura 7.</b> Cultivo da espécie <i>Cymbopogon martinii</i> . Fonte: Eden Botanicals, 2022. ....	36
<b>Figura 8.</b> Estrutura química do geraniol, composto majoritário do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i> . Fonte: Google imagens.....	37
<b>Figura 9.</b> Valores de concentração letal 50 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> (OECW), <i>Cymbopogon nardus</i> (OECN), <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF), <i>Cymbopogon martinii</i> (OECD) e do geraniol frente a ovos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	70
<b>Figura 10.</b> Valores de concentração letal 50 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> (OECW), <i>Cymbopogon nardus</i> (OECN), <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF), <i>Cymbopogon martinii</i> (OECD) e do geraniol frente a larvas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	72
<b>Figura 11.</b> Valores de concentração letal 50 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> (OECW), <i>Cymbopogon nardus</i> (OECN), <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF), <i>Cymbopogon martinii</i> (OECD) e do geraniol frente a pupas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	73
<b>Figura 12.</b> Valores de concentração letal 50 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> (OECW), <i>Cymbopogon nardus</i> (OECN), <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF), <i>Cymbopogon martinii</i> (OECD) e do geraniol frente a adultos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	74
<b>Figura 13.</b> Valores de concentração letal 50 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> (OECW), <i>Cymbopogon nardus</i> (OECN), <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF),	

<i>Cymbopogon martinii</i> (OECM) e do geraniol frente a inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	76
<b>Figura 14.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	78
<b>Figura 15.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	79
<b>Figura 16.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	79
<b>Figura 17.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i> frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	80
<b>Figura 18.</b> Eficácia residual do geraniol frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	80
<b>Figura 19.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Cympopogon nardus</i> nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	82
<b>Figura 20.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Cympopogon winterianus</i> nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	84
<b>Figura 21.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Cympopogon flexuosus</i> nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	85
<b>Figura 22.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Cympopogon martinii</i> nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	86
<b>Figura 23.</b> Percentual de repelência do geraniol nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	87
<b>Figura 24.</b> Percentual de repelência do controle positivo (N, N-Dietil-m-Toluamida) nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm <sup>2</sup> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	88

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Faixas de concentrações utilizadas nos testes definitivos para os óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol .....	42
<b>Tabela 2.</b> Resultado da composição química dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (continua) .....	48
<b>Tabela 3.</b> Percentual de mortalidade de ovos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol durante o teste preliminar, no tempo de 72 horas de desafio.....	52
<b>Tabela 4.</b> Percentual de mortalidade de larvas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e Geraniol durante o teste preliminar, nos tempos de 24 e 48 horas de desafio.....	53
<b>Tabela 5.</b> Percentual de mortalidade de pupas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e Geraniol durante o teste preliminar, no tempo de 15 dias de desafio.....	54
<b>Tabela 6.</b> Percentual de mortalidade de adultos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e Geraniol durante o teste preliminar, durante 24 e 48 horas de desafio.....	55
<b>Tabela 7.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	57
<b>Tabela 8.</b> Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	57
<b>Tabela 9.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	60

<b>Tabela 10.</b> Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	60
<b>Tabela 11.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	62
<b>Tabela 12.</b> Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	63
<b>Tabela 13.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	65
<b>Tabela 14.</b> Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	65
<b>Tabela 15.</b> Percentual de mortalidade do geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	67
<b>Tabela 16.</b> Concentração letal 50 e 90 do geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	68
<b>Tabela 17.</b> Percentual de repelência dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol frente a pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	89

## **LISTA DE ABREVIASÕES**

AChE = Acetilcolinesterase

AHJ = Análogos do hormônio juvenil

B.O.D = Demanda Bioquímica de Oxigênio

CEUA = Comissão de Ética no Uso de Animais

CL = Concentração letal

CL<sub>50</sub> = Concentração letal 50

CL<sub>90</sub> = Concentração letal 90

CG = Cromatografia Gasosa

DAPP = Dermatite Alérgica a Picada de Pulga

DDT = Diclorodietiltricloroetano

DEET = N,N-Dietil-m-toluamida

DPA = Departamento de Parasitologia Animal

FeLV = Vírus da Leucemia Felina

FID = Detector por ionização de chama

FIV = Vírus da Imunodeficiência Felina

GABA = Ácido Gama-Aminobutírico

H = Hora

IC = Intervalo de confiança

ICB = Inibição do Ciclo Biológico

ISQ = Inibidores da síntese de quitina

IV = Instituto de Veterinária

KI = Índice de Kovats obtido

KILit = Índice de Kovats da Literatura

LABPAM = Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais

LQEPV = Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

nAChRs = Receptores nicotínicos de acetilcolina

OE = Óleo Essencial

OEs = Óleos Essenciais

OECF = Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*

OECM = Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*

OECN = Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*

OECW = Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*

PR = Percentual de repelência

UFRRJ = Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Biologia de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	3
2.2 Importância em saúde de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	5
2.3 Medidas de controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	6
2.3.1 Controle mecânico.....	7
2.3.2 Controle químico.....	7
2.3.3 Controle biológico.....	19
2.3.4 Controle com química verde .....	20
2.4 Uso de óleos essenciais no controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	25
2.5 <i>Cymbopogon</i> spp.....	26
2.5.1 <i>Cymbopogon nardus</i> .....	27
2.5.2 <i>Cymbopogon winterianus</i> .....	30
2.5.3 <i>Cymbopogon flexuosus</i> .....	32
2.5.4 <i>Cymbopogon martinii</i> .....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1 Localização da experimentação .....	39
3.2 Origem dos óleos essenciais .....	39
3.3 Caracterização química dos óleos essenciais .....	39
3.4 Origem do material biológico .....	40
3.5 Testes in vitro com <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	40
3.5.1 Resumo do Delineamento Experimental.....	40
3.5.2 Preparo das soluções .....	41
3.5.3 Avaliação da atividade inseticida <i>in vitro</i> dos óleos essenciais <i>Cymbopogon nardua</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa e adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	43
3.5.4 Avaliação da atividade <i>in vitro</i> na interrupção do ciclo biológico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol.....	44
3.5.5 Avaliação da eficácia residual <i>in vitro</i> dos óleos essenciais <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	45

3.5.6 Eficácia repelente <i>in vitro</i> dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> , <i>Cymbopogon martinii</i> e geraniol frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	45
3.5.7 Análise dos dados.....	46
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais.....	48
4.2 Determinação da atividade inseticida <i>in vitro</i> dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> e <i>Cymbopogon martinii</i> e do geraniol contra <i>Ctenocephalides felis felis</i> – Testes de Screening .....	51
4.3 Atividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> frente a diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	56
4.4 Atividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> frente a diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	59
4.5 Atividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> frente a diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	62
4.6 Atividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i> frente a diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	64
4.7 Atividade do Geraniol frente a diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	67
4.8 Comparação da atividade inseticida e na interrupção do ciclo biológico dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> e <i>Cymbopogon martinii</i> e do geraniol frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	69
4.9 Eficácia Residual dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> e <i>Cymbopogon martinii</i> e do geraniol frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	78
4.10 Atividade repelente dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>Cymbopogon flexuosus</i> e <i>Cymbopogon martinii</i> e do geraniol frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	81
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>90</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>91</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>92</b>
<b>8. ANEXO .....</b>	<b>116</b>
Certificado de Aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para a Manutenção da colônia laboratorial da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> em gatos.....	116

## 1. INTRODUÇÃO

A pulga *Ctenocephalides felis felis* trata-se de um pequeno inseto com hematofagia restrita aos adultos e dimorfismo sexual. Apresenta metamorfose completa, com alternância entre vida livre nos estágios imaturos e vida parasitária no estágio adulto. Essa subespécie, encontrada com maior prevalência nos animais domésticos (cães e gatos), possui ampla distribuição por todo território nacional e por diversos países.

Infestações por pulgas em ambientes domésticos e em animais de companhia são de ocorrência comum, e estão diretamente e indiretamente relacionadas com grandes perdas econômicas, debilidade aos animais maciçamente infestados e vetoração de agentes patogênicos ao homem e animais, sendo importantes para a saúde pública.

Como a adoção de animais de companhia vem aumentando significativamente nos lares brasileiros nos últimos anos, o cuidado e zelo pelo bem estar desses animais têm sido cada vez mais preconizado. Em função disso, diversos métodos para o controle destes parasitos têm sido estudados. Atualmente, o uso de ectoparasiticidas sintéticos ainda é a principal forma de controle, contudo, a busca por moléculas naturais, alternativas e com menores impactos sobre a saúde humana, animal e ao ambiente vêm aumentando no decorrer dos anos, como a utilização de subprodutos de plantas, dentre ele os óleos essenciais (OEs).

Os OEs são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular e geralmente odoríferas, extraídos de diversas partes de plantas. São compostos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos, metabólitos que conferem proteção natural e as características organolépticas das plantas.

A atividade inseticida de OEs provenientes de diversas espécies de plantas tem sido estudada nas últimas décadas, principalmente frente a pragas de grãos armazenados. O gênero *Cymbopogon*, constituído de aproximadamente cento e quarenta espécies distintas, é um exemplo de planta muito cultivada atualmente para a extração dos seus subprodutos. Os OEs extraídos de diferentes partes dessas plantas apresentam composição química variada e são compostos, principalmente, por monoterpenos. Apresenta grande importância na economia mundial devido à produção de OEs destinados à aromaterapia, fabricação de cosméticos, condimentos e medicamentos. Outras aplicações já foram relatadas devido a atividade biológica desse gênero, como suas propriedades repelentes, fungicidas, bactericidas e a aplicação dos seus OEs como biopesticidas. Porém, na literatura, ainda são escassos os trabalhos isolados a

respeito da influência dos seus OEs sobre o ciclo evolutivo da pulga, tampouco sobre os possíveis mecanismos de ação que podem desencadear.

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade inseticida, repelente e na inibição do ciclo biológico *in vitro* dos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*, e do constituinte geraniol, além de determinar as concentrações letais (CL) 50 e 90 e a eficácia residual, sobre os estágios de ovo, larva, pupa e adultos da pulga *C. felis felis*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Biologia de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas são pequenos insetos ápteros que surgiram há cerca de 125-150 milhões de anos atrás, provavelmente junto com a evolução dos marsupiais e insetívoros (DOBLER; PFEFFER, 2011).

Taxonomicamente, esses ectoparasitos pertencem ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Siphonaptera e estão distribuídos em 15 grandes famílias, nas quais se destacam as famílias Pulicidae, Ceratophyllidae, Leptopsyllidae e Vermipsyllidae, por agruparem a maioria das pulgas de importância médica e médica veterinária. Dentre a família Pulicidae, inclui-se o gênero *Ctenocephalides* com duas principais espécies: *Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*, que podem ser diferenciados entre si a partir de detalhes sutis na sua morfologia e distribuição geográfica (DOBLER; PFEFFER, 2011; LINARDI; GUIMARÃES, 2000; LINARDI; SANTOS, 2012). Apesar de outras subespécies de *C. felis* já terem sido relatadas, no Brasil, a pulga *C. felis felis* é a única subespécie encontrada em animais de estimação (cães e gatos), sendo considerada um dos mais importantes ectoparasitas mundiais (DOBLER; PFEFFER, 2011; DRYDEN *et al.*, 2018; FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019; LINARDI; SANTOS, 2012).

*Ctenocephalides felis felis* é um inseto pequeno, medindo aproximadamente um a oito milímetros de comprimento. A cabeça possui antenas compostas por três segmentos (escapo, pedicelo e flagelo ou clava) e seu aparato bucal é do tipo picador-sugador (DOBLER; PFEFFER, 2011). É possível observar a presença de ctenídios, estruturas caracterizadas por cerdas mais robustas e esclerosadas, destinadas à fixação e locomoção entre os pelos dos hospedeiros (LINARDI, 2011; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). O tórax, dividido em três segmentos (protórax, mesotórax e metatórax), é compactado e demasiadamente largo. O abdômen é arredondado e bem desenvolvido, e o corpo achatado latero-lateralmente, revestido por um tegumento liso de coloração castanho escuro. As pernas, subdivididas em coxa, trocanter, fêmur, tíbia e tarsos, apresentam o terceiro par desenvolvido e forte, características que contribuem para a sua adaptação ao salto (DOBLER; PFEFFER, 2011; FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Também apresentam dimorfismo sexual: as fêmeas geralmente são maiores e com extremidade posterior do abdômen mais arredondada, onde alojam as espermatecas, órgão reservatório dos espermatozoides;

enquanto os machos são menores e apresentam a extremidade posterior do abdômen voltada para cima, onde albergam o aparelho copulador (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

As pulgas são insetos holometabólicos, ou seja, fazem metamorfose completa, sendo seu ciclo biológico dividido em quatro estágios: ovo, larva (com três instares larvais), pupa e adultos. O ciclo conclui-se em aproximadamente 25-30 dias, podendo sofrer variação de acordo com a temperatura, umidade e disponibilidade de alimento para as larvas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; KRASNOV, 2008; LINARDI, 2011).

Os ovos são estruturas de formato ovoide, com extremidades arredondadas, coloração branco perolado e de aproximadamente 0,5 centímetro de comprimento, que são depositados entre os pelos do hospedeiro. Pelo fato de não serem pegadiços, os ovos tendem a cair para o meio ambiente, geralmente nos locais de repouso dos hospedeiros, pois são áreas onde os animais passam grande parte do seu tempo (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

A eclosão da larva de primeiro instar (L1) ocorre com um intervalo de um a 10 dias após a oviposição, dependendo das condições ambientais (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). As larvas são estruturas delgadas, de coloração esbranquiçada, aparelho bucal mastigador e possuem de dois a cinco milímetros de comprimento. São de vida livre e sua dieta é baseada em fezes de pulgas adultas e detritos orgânicos presentes no ambiente (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Possuem geotropismo positivo e fototropismo negativo, não se desenvolvem em áreas expostas a luz solar forte (DRYDEN; RUST, 1994; RUST; DRYDEN, 1997). No final do seu desenvolvimento, o terceiro instar larval (L3) inicia o esvaziando do seu trato gastrointestinal e ocorre a formação do casulo pupal (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Os casulos são estruturas ovoides, de coloração esbranquiçada e possuem aproximadamente 0,5 centímetro de comprimento, que podem ser encontrados aderidos a sujidades ambientais devido ao seu aspecto pegajoso. As pupas são o estágio de maior resistência encontrados no ambiente, devido à proteção exercida pelo casulo (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Fatores como o aumento da temperatura, vibrações, maior concentração de dióxido de carbono e pressão mecânica estimulam o rompimento do pupário e a emergência da pulga adulta (DRYDEN; RUST, 1994; SIAK; BURROWS, 2013).

Após a emergência das pulgas adultas, inicia-se o repasto sanguíneo nos hospedeiros e a oviposição ocorre em um período máximo de 36 a 48 horas após a primeira alimentação,

iniciando novamente todo ciclo biológico (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

## 2.2 Importância em saúde de *Ctenocephalides felis felis*

A pulga *C. felis felis*, trata-se da subespécie com maior prevalência nos animais domésticos (cães e gatos). Esse inseto possui ampla distribuição por todo território nacional e por diversos países, sendo considerado um dos mais importantes ectoparasitas mundiais (MÉNIER; BEAUCOURNU, 1998).

Infestações por pulgas em ambientes domésticos e em animais de companhia são de ocorrência comum, e estão diretamente e indiretamente relacionadas com grandes perdas econômicas, vetoração de agentes patogênicos e debilidade aos animais maciçamente infestados, uma vez que são capazes de provocar intenso prurido, irritabilidade, espoliação do hospedeiro, anemia, alterações comportamentais e quadros de hipersensibilidade do tipo I (LEE; JACKSON; OPDEBEECK, 1997; PATERSON, 2015; RUST, 2005; SIAK; BURROWS, 2013).

*Ctenocephalides felis felis* é considerada hospedeiro intermediário de alguns helmintos, como os cestoides *Dipylidium caninum* e *Hymenolepis nana* (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DRYDEN et al., 2018), e filarídeos, como *Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum* (BEUGNET et al., 2014; BLAGBURN; DRYDEN, 2009; NAPOLI et al., 2014). Além disso, também estão relacionadas com a vetoração de outros patógenos, como bactérias e vírus. Essa subespécie já foi correlacionada com a transmissão de bactérias como *Rickettsia typhi*, *R. felis*, *Bartonella* spp. (BREITSCHWERDT, 2008; DRYDEN et al., 2018; KAMRANI et al., 2008), *Mycoplasma haemofelis* e *M. haemominutum* (DRYDEN et al., 2018; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ et al., 2018; WOODS et al., 2005). Estudos *in vitro* também demonstraram a sua competência vetorial na transmissão do Calicivírus Felino (MENCKE et al., 2009), através das suas fezes, e das retrovíroses felinas, como o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e o Vírus da Leucemia Felina (FeLV), porém, essa capacidade vetorial nunca foi relatada *in vivo* (VOBIS et al., 2003, 2005). Contudo, a participação da pulga neste tipo de transmissão é questionada, uma vez que se fosse de fato capaz a prevalência dessas enfermidades seriam maiores do que as descritas atualmente (LITTLE et al., 2020).

A saliva da pulga é composta por uma grande variedade de alérgenos ao hospedeiro, como compostos histamínicos, enzimas, polipeptídeos e aminoácidos de diferentes tamanhos (AMBRÓSIO et al., 2014; HALLIWELL et al., 1987), porém, os sinais clínicos dermatológicos

são variáveis e dependem de alguns fatores, como grau de infestação, tolerância individual do hospedeiro e hipersensibilidade do animal à presença da saliva da pulga (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; RUST, 2005).

As consultas de dermatologia em pequenos animais representam 25-30% do total das consultas veterinárias, destacando as doenças de foco alérgico como um dos principais motivos para a procura dessa especialidade (SILVA *et al.*, 2009). A dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP), induzida por quadros de hipersensibilidade do tipo I (forma inicial) e hipersensibilidade do tipo IV (forma tardia), é uma das afecções dermatológicas de hipersensibilidade de maior incidência nos animais domésticos, sendo a principal causa de dermatite miliar em gatos (AMBRÓSIO *et al.*, 2014; BLAGBURN; DRYDEN, 2009; CARLOTTI; JACOBS, 2000; DRYDEN *et al.*, 2018; FERNANDES; SALZO; DE PAIVA FERNANDES, 2021; PEREIRA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2009), podendo levar à quadros de prurido, alopecia, eritema e predisposição a infecções secundárias da pele por fungos e/ou bactérias (PATERSON, 2015; SOUSA; HALLIWELL, 2001).

### **2.3 Medidas de controle de *Ctenocephalides felis felis***

Diversos métodos para o controle destes parasitos têm sido estudados ao longo dos anos, considerando tanto a dinâmica sazonal quanto às suas particularidades parasitárias (DONAHUE *et al.*, 1997; ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2014), uma vez que possuem ciclo biológico dividido em duas fases: a fase de vida parasitária (hospedeiro) e a fase de vida livre (meio ambiente) (BITAM *et al.*, 2010; BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os adultos representam apenas uma pequena parte da população de pulgas no hospedeiro (BITAM *et al.*, 2010; FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019), enquanto a maior parte da população, corresponde as formas evolutivas imaturas (ovo, larva e pupa) encontram-se livres no ambiente (FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Portanto, para a implantação de uma medida de controle efetiva, é necessário adoção de estratégias que também atuem nas fases imaturas destes insetos, possibilitando uma redução das pulgas tanto nos hospedeiros quanto no meio ambiente (BATISTA *et al.*, 2012; FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019) e, consequentemente, impossibilitando contínuas reinfestações (FOURIE; KOK; PETER, 2000).

Dentre as estratégias disponíveis para controle desses ectoparasitos, podemos citar: controle mecânico, controle biológico, controle químico e controle com química verde (DONAHUE *et al.*, 1997; RUST, 2020; ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2014).

### **2.3.1 Controle mecânico**

O controle mecânico é uma estratégia que pode contribuir significativamente para a eficácia de um sistema de controle (DRYDEN; NEAL; BENNETT, 1989), uma vez que pode modificar determinadas condições que favorecem o desenvolvimento de populações de pulgas no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). A estratégia pode ser empregada de duas maneiras distintas: adoção de meios mecânicos de controle individual, relacionados ao hospedeiro, e meios mecânicos de controle ambiental, relacionados ao ambiente domiciliar e peridomiciliar do animal (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Os meios mecânicos de controle individual estão relacionados com o ato de higienização adequada dos animais, além da catação manual e retirada mecânica das pulgas por meio da penteação dos animais domésticos (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). O ato de pentear durante um período de cinco minutos é capaz de reduzir significativamente o grau de infestação por pulgas (RUST, 2005).

Os meios mecânicos de controle ambiental relacionados ao ambiente domiciliar, referem-se à lavagem semanal e aspiração adequada das camas, panos e tapetes utilizados frequentemente pelos animais; descarte adequado e imediato do material aspirado, para que os ovos e larvas não continuem se desenvolvendo dentro do compartimento (BLAGBURN; DRYDEN, 2009); limpeza dos pisos, evitando o desenvolvimento desses insetos em fendas e rachaduras (BATISTA *et al.*, 2012); e limpeza das caixas de transporte utilizadas pelos animais (DRYDEN; NEAL; BENNETT, 1989).

Já o controle mecânico dos ambientes peridomiciliares, referem-se à adoção de medidas de higienização em locais estratégicos, como a varredura frequente dos canis; limitação do acesso de animais de vida livre ao ambiente externo da residência; e manejo adequado do solo e da vegetação, principalmente em áreas úmidas e protegidas da luz solar direta, evitando assim, condições favoráveis para o desenvolvimento de pulgas (DRYDEN; RUST, 1994).

### **2.3.2 Controle químico**

O controle químico é realizado com o uso de substâncias inseticidas, também denominadas pulicidas ou pulguicidas (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996; TANCREDI *et al.*, 2009), utilizadas

principalmente para matar, atrair e/ou repelir insetos (BATISTA *et al.*, 2012; VIEGAS-JÚNIOR, 2003). Estes compostos podem estar disponíveis em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação, como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, “sprays”, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on” e “pour-on” (OTRANTO; WALL, 2008; SCOTT *et al.*, 2002), podendo agir tanto sistematicamente, baseando-se na captação do composto pelos tecidos dos hospedeiros, quanto por contato direto com o parasito, após a aplicação externa do produto (TAYLOR, 2001).

Os principais grupamentos químicos disponíveis para o controle de pulgas em animais domésticos no Brasil são: organofosforados e carbamatos, piretroides, fenilpirazoles, lactonas macrocíclicas, neonicotinoides, espinosinas, oxadiazinas, semicarbazonas, isoxazolinas e reguladores de crescimento de artrópodes (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DRYDEN *et al.*, 2011, 2013, 2018; HASSAAN; EL NEMR, 2020; SALGADO; HAYASHI, 2007; TAYLOR, 2001).

Apesar do controle de ectoparasitas de importância veterinária ainda depender principalmente de grupamentos químicos, a procura de novos compostos ou formulações visando menor impacto ambiental, baixa resistência, maior segurança de utilização, seletividade, biodegradabilidade e viabilidade econômica são necessárias, visando maior efetividade e redução de eventos indesejáveis no controle integrado de insetos (COOP *et al.*, 2002; FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019; TAYLOR, 2001; VIEGAS-JÚNIOR, 2003).

O primeiro caso de resistência de pulgas à ectoparasiticidas foi relatado no Peru em 1949, onde a espécie *Pulex irritans* demonstrou-se resistente à utilização do composto diclodifeniltricloetano (DDT). Casos de resistência de *C. felis* ao DDT só foram descritos alguns anos depois, em 1952 (BROWN; PAL; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1971; BUSVINE, 1963; COLES; DRYDEN, 2014). Após isso, outros relatos de resistência dessa espécie também foram publicados para carbamatos, organofosforados, piretroides, piretrinas, organoclorados e fipronil (COLES; DRYDEN, 2014; RUST; DRYDEN, 1997; RUST *et al.* 2015; RUST; KNAPP, 1993; SCHENKER *et al.*, 2001).

Nas últimas três décadas, ensaios clínicos com biopesticidas (pesticidas naturais) foram realizados com o objetivo de amenizar a exposição e o risco de danos colaterais em homens e animais, além de reduzir a contaminação ambiental, relatados com a utilização de inseticidas convencionais (OGUH *et al.*, 2019a).

Os pesticidas nos recursos hídricos afetam profundamente os seres humanos e o funcionamento do ecossistema (ALMEIDA *et al.*, 2021; HASSAAN; EL NEMR, 2020). A aplicação de pesticidas pode levar à contaminação do ambiente aquático de várias maneiras, incluindo: pulverização, escoamento e lixiviação (HASSAAN; EL NEMR, 2020). Após a sua utilização, cerca de 80% do composto penetra em recursos ambientais como resultado do escoamento e podem persistir por anos, cursando com a exposição de animais, trabalhadores e consumidores dos produtos agrícolas (DIMETRY; ABD EL-SALAM; ELHAWARY, 2010; OGUH *et al.*, 2019a, 2019b; PERKINS *et al.*, 2021). Uma taxa de mortalidade de 0,4 - 1,9% é registrada anualmente como consequência de intoxicação aguda por contato com pesticidas, sendo o contato relacionado ao trabalho o possível responsável por 70% desses números (EDDLESTON, 2020; HASSAAN; EL NEMR, 2020). Além disso, o desenvolvimento de síndromes a partir da exposição a médio e longo prazo já foram associados, tais como distúrbios do sistema nervoso, doenças oncológicas e hematológicas, disfunções pulmonares, deformidades congênitas e deficiência do sistema imunológico (BERTERO *et al.*, 2020; COHEN, 2007; HASSAAN; EL NEMR, 2020; OWENS; FELDMAN; KEPNER, 2010; UNEP, 1993).

### **2.3.2.1 Organofosforados e carbamatos**

Os compostos pertencentes à categoria dos organofosforados e carbamatos são conhecidos como inibidores competitivos da enzima acetilcolinesterase (AChE), realizada de maneira irreversível e reversível, respectivamente (AGUERA *et al.*, 2020; CAVALIERE *et al.*, 1996; NOGUEIRA; ANDRADE, 2011; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996; SILVA *et al.*, 2001). Essa enzima, encontrada comumente nos tecidos nervosos e musculares, é responsável pela hidrólise da acetilcolina, um importante neurotransmissor presente na fenda sináptica (ANDRADE, 2002; MARTÍ, 2005; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996; SILVA *et al.*, 2001). Quando a AChE é inibida, esse neurotransmissor acumula-se de maneira exacerbada nos seus sítios de ação, provocando um colapso no sistema nervoso central e levando a morte do inseto por paralisia (HASSAAN; EL NEMR, 2020; OSWEILER, 1998; TAYLOR, 2001).

Estes inseticidas, amplamente utilizados na agropecuária brasileira e na medicina veterinária, são responsáveis por um grande percentual de intoxicações acidentais graves em humanos e animais, com consequentes casos de óbitos (AGUERA *et al.*, 2020; CASTRO;

MOUTINHO, 2021; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996). A sua utilização deve ser cautelosa, pois como são substâncias bastante lipossolúveis, são absorvidos rapidamente através da pele, olhos, trato gastrointestinal e trato respiratório, levando facilmente a quadros de intoxicação (HASSAAN; EL NEMR, 2020; NOGUEIRA; ANDRADE, 2011).

Na União Europeia, muitos pesticidas para uso agrícola foram proibidos devido à preocupação com os riscos à saúde humana, incluindo os organofosforados e carbamatos (DE MONTAIGU; GOULSON, 2020). Segundo Beavers *et al.* (2014), uma senhora de 55 anos apresentou neuropatia tardia grave induzida pelo organofosforado acefato, após a sua pulverização contínua na residência, culminando no óbito da paciente após 2 anos do episódio de intoxicação.

As exposições aos carbamatos podem ser consideradas menos perigosas quando comparados aos casos relacionados aos organofosforados, uma vez que o seu mecanismo de ação é baseado na inativação temporária da AChE (CAVALIERE *et al.*, 1996; MASON *et al.*, 1984). Porém, vale ressaltar que são extremamente tóxicos para os gatos, mesmo quando utilizados somente para o tratamento ambiental (TAYLOR, 2001).

Dentre os organofosforados comercializados no Brasil, podemos citar o clorpirifós, coumafós, diclorvós, triclorfon, fention e diazinon, sendo este último o composto mais utilizado no controle de ectoparasitos de pequenos animais, como a pulga *C. felis felis*. Em relação aos carbamatos, os principais compostos de uso em medicina veterinária são: carbaril, propoxur e fenoxy carb (FRANC; CADIERGUES, 1998; GRENIER, S.; GRENIER, A., 1993; SCOTT *et al.*, 2002; TAYLOR, 2001).

### **2.3.2.2 Piretroides**

Os piretroides são compostos sintéticos análogos às piretrinas, ésteres extraídos das flores da espécie *Chrysanthemum cinerariaefolium* (HASSAAN; EL NEMR, 2020; SANTOS; AREAS; REYES, 2008). Durante muito tempo, a piretrina foi empregada no combate de insetos, tanto pela sua eficácia em uma grande diversidade de espécies quanto pela baixa toxicidade aos indivíduos expostos (mamíferos), quando utilizadas de maneira adequada. Porém, devido a sua instabilidade no ar e a facilidade de decomposição pela luz solar, estudos visando uma adequação na sua estrutura química foram realizados, acarretando no advento dos piretroides, moléculas sintéticas mais estáveis e mais eficazes do que a molécula precursora

(ELLIOTT; JANES, 1978; MELO; DE OLIVEIRA; LAGO, 2002; SANTOS; AREAS; REYES, 2008).

Atualmente, os piretroides são os inseticidas mais utilizados na agricultura e também na medicina veterinária, pois apresentam baixa toxicidade em aves e mamíferos, eficácia contra amplo espectro de insetos e são necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação (HASSAAN; EL NEMR, 2020; SANTOS; AREAS; REYES, 2008).

Apesar de ser um produto oriundo de uma planta e das vantagens mencionadas anteriormente, alguns estudos já demonstraram que podem ser demasiadamente tóxicos para peixes, abelhas, mamíferos, artrópodes aquáticos (lagostas e camarões) e para o meio ambiente, enfatizando a necessidade do seu uso racional e ponderado, uma vez que, consequentemente, pode levar à exposição de organismos não alvos aos seus efeitos tóxicos (HASSAAN; EL NEMR, 2020; SANTOS; AREAS; REYES, 2008; ZHU *et al.*, 2020).

O produto da sua fotodegradação (dibenzofuranos) é prejudicial tanto aos mamíferos quanto ao meio ambiente. Em humanos, a exposição aos piretroides pode causar sintomas como náuseas, vômitos, dispneia, tosse, broncoespasmo e efeitos dérmicos (parestesias e alergias), além de evidências de distúrbios no sistema reprodutor masculino já documentados na literatura, alterando a qualidade do esperma e interferindo na produção de hormônios reprodutivos. O consumo de alimentos com resíduos de piretroides também já foi associado ao aumento do risco de doenças neurológicas e alterações no desenvolvimento de crianças na faixa etária de 3 a 11 anos. Além disso, problemas como mosquitos e microrganismos ambientais resistentes aos piretroides também já foram relatados (LU *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2020).

Seu mecanismo de ação é baseado na modulação dos canais de sódio. Quando essas substâncias entram em contato com o sistema nervoso do inseto, promovem um fechamento lento dos canais de sódio na membrana neuronal e inibição do fluxo de íon cloro dependente do receptor GABA. Dessa forma, os íons de sódio entram de forma contínua, produzindo excessivos potenciais de ação seguidos de hiperpolarização da membrana e, consequentemente, o inseto tem um primeiro sintoma de hiperexcitação, seguido de paralisia imediata e morte (DROBATZ, 1994; FERNANDES, 2014; HASSAAN; EL NEMR, 2020; MELO; DE OLIVEIRA; LAGO, 2002).

Em animais de companhia, são usados principalmente para controle de pulgas (ANADÓN *et al.*, 2009; FRANC; CADIERGUES, 1999; TAYLOR, 2001). Diferentemente dos cães, a sua utilização em gatos é contraindicada devido à alta incidência de intoxicações, uma vez que a sua metabolização ocorre de maneira mais lenta nessa espécie (ANADON;

MARTINEZ-LARRANAGA; MARTINEZ, 2009; GRACE, 2012; MELO; DE OLIVEIRA; LAGO, 2002).

Os piretroides mais comumente utilizados são: deltametrina, permetrina, cipermetrina, flumetrina, fenotrina, bioaletrina, fenvalerato e lambda-cialotrina. Dentre eles, a deltametrina é reconhecida como o piretroide com maior toxicidade para vertebrados (ANADÓN *et al.*, 2009; TAYLOR, 2001).

### **2.3.2.3 Fenilpirazoles**

Os fenilpirazoles são substâncias inseticidas que foram introduzidos nos Estados Unidos em 1996 para controle de pragas em plantações, devido a sua ação herbicida (CHANDLER *et al.*, 2004; COLE; NICHOLSON; CASIDA, 1993; RUST, 2005). Outras aplicações já foram relatadas devido a sua atividade, como: conservante de madeiras; controle de pulgas e carapatos em animais domésticos; e combate de baratas e formigas em ambiente domiciliar (CHANDLER *et al.*, 2004; PAYNE *et al.*, 2001).

Atualmente, são mundialmente utilizados tanto em culturas agrícolas, uma vez que são necessárias doses relativamente baixas para o controle de pragas (ÁVILA; GOMEZ, 2003), quanto no tratamento e controle de insetos em animais domésticos. Como apresentam efeito tópico, não necessitam que os animais sejam picados para que o parasito entre em contato com o produto, o que é desejado para o tratamento de animais alérgicos (BRANDÃO, 2004; TAYLOR, 2001).

O principal ativo pertencente à essa classe é conhecido como fipronil (COX, 2005), uma substância altamente lipofílica e capaz de se difundir rapidamente pelos tecidos, principalmente o tecido adiposo, característica que proporciona um maior efeito residual (TAYLOR, 2001). Este produto não é capaz de ser absorvido pela pele intacta do animal, mas difunde-se rapidamente pelas glândulas sebáceas dos folículos pilosos e espalha-se pela pelagem (HOVDA; HOOSER, 2002). Além disso, apresenta baixa toxicidade quando utilizado de maneira adequada (HOVDA; HOOSER, 2002).

Recentemente, um estudo publicado por Ferreira (2022), permitiu demonstrar níveis alarmantes de contaminação por fipronil em corpos hídricos na região da baixada fluminense, servindo de alerta para a necessidade de inclusão desse produto na legislação que rege a qualidade de águas superficiais.

Uma outra substância derivada dos fenilpirazois também foi introduzida no mercado nos últimos anos, conhecida como piriprole, disponível em formulação *spot on* para o tratamento de ectoparasitos em pequenos animais (SCHUELE *et al.*, 2008).

O mecanismo de ação é baseado no bloqueio dos canais de íons cloreto. Esses canais são regulados pelo ácido gama-amino-butírico (GABA), um neurotransmissor inibitório do Sistema Nervoso Central (SNC) que é inibido por esse composto químico (BLACKBURN; LINDSAY, 2003; COUTINHO *et al.*, 2005). O receptor GABA, responsável pela inibição da atividade neural anormal, previne o estímulo nervoso excessivo em condições fisiológicas. Quando a função desse sistema é bloqueada ocorre hiperexcitação do sistema nervoso central e, consequentemente, morte do inseto (COUTINHO *et al.*, 2005; POSTAL; JEANNIN; CONSALVI, 1995; RUST, 2005).

#### **2.3.2.4 Lactonas macrocíclicas**

As lactonas macrocíclicas são substâncias de amplo espectro obtidas a partir da fermentação de fungos do gênero *Streptomyces*, inseridas no mercado na década de 1980 devido à sua propriedade endectocida, ou seja, atuam como anti-helmínticos e ectoparasiticidas (ALMEIDA; AYRES, 2006; DELAYTE *et al.*, 2006).

Esses compostos são divididos em duas subclasses: avermectinas (doramectina, ivermectina, selamectina, abamectina e eprinomectina) e milbemicinas (milbemicina e moxidectina), que diferem entre si em alguns radicais presentes na sua estrutura química (ALMEIDA; AYRES, 2006; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995). Apenas cinco representantes possuem indicação em bula para animais de companhia, tais como ivermectina, selamectina, eprinomectina, milbemicina e moxidectina (NOLAN; LOK, 2012), porém, isoladamente, somente a selamectina apresenta eficácia satisfatória frente a pulgas (DRYDEN *et al.*, 2013, 2018; MCTIER *et al.*, 2000a, 2000b).

Seu mecanismo de ação é baseado na potencialização da ação inibidora neuronal mediada pelo GABA, causando hiperpolarização do neurônio e inibição da passagem do estímulo nervoso. Em artrópodes e nematódeos, o GABA é encontrado na junção neuromuscular e está relacionado aos receptores de canais de cloro. Sua ativação promove influxo desses íons com consequente hiperpolarização de membrana, levando a paralisia flácida e morte do parasito. Além disso, também atuam sobre os canais de cloro controlados pelo glutamato (RUST, 2005; SPINOSA; XAVIER; MARUO, 2008; TAYLOR, 2001).

Como são substâncias altamente lipossolúveis, distribuem-se rapidamente pelo organismo, exercendo sua ação principalmente no SNC (SPINOSA; XAVIER; MARUO, 2008). No entanto, os mamíferos em geral são protegidos desses efeitos, pois como são moléculas de alto peso molecular, não são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica íntegra (DELAYTE *et al.*, 2006; MEALEY, 2006).

Apesar de apresentarem ampla margem de segurança, alguns animais das raças Collie, Old, English Sheepdog, Pastor de Shetland, Pastor Alemão, Afgan Hound ou até mesmo cruzamentos entre essas raças, são considerados altamente suscetíveis à toxicidade da molécula devido à uma mutação que ocorre no gene MDR1, podendo levar a casos graves de intoxicação e até mesmo evoluir ao óbito (DELAYTE *et al.*, 2006; MEALEY, 2006).

Atualmente, as lactonas macrocíclicas são comumente utilizadas na clínica de pequenos animais para o controle de carrapatos, piolhos, ácaros, prevenção da dirofilariose e como anti-helmínticos (DELAYTE *et al.*, 2006). Porém, de acordo com alguns estudos, apresentam baixa eficácia quando aplicadas de maneira isolada frente a *C. felis felis*, com exceção da selamectina, conforme demonstrado por McTier *et al.* (2000b), em um estudo realizado para avaliar os efeitos da selamectina contra os estágios adultos e imaturos dessa subespécie de pulga, constatando elevada eficácia adulticida, na redução do número de ovos e no número de larvas em cães tratados com o produto. Resultados inseticidas satisfatórios também foram relatados a partir da associação de lactonas macrocíclicas com outros grupamentos químicos (BAKER *et al.*, 2014; BRANDÃO, 2004; CUTOLO *et al.*, 2022; PACKIANATHAN *et al.*, 2020; RUST, 2005; WENZEL *et al.*, 2008; ZAKSON-AIKEN; GREGORY; SHOOP, 2000).

### 2.3.2.5 Neonicotinoides

Os neonicotinoides são substâncias sintéticas derivadas da molécula de nicotina, introduzidas no mercado na década de 90 para o controle de pragas agrícolas. Nesse período, o mercado global de inseticidas era liderado pelos organofosforados, carbamatos e piretroides, contudo, os efeitos colaterais e a resistência das pragas a alguns desses compostos levaram ao advento desse grupamento (ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; JESCHKE; NAUEN, 2008).

Essas substâncias atuam como agonistas de alta afinidade dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) nos insetos, responsáveis pela neurotransmissão pós-sináptica (MATSUDA *et al.*, 2001). Como esse ativo não é degradado imediatamente, a sua ligação aos nAChRs resulta na ativação contínua desses receptores, levando a efeitos similares aos da

nicotina, que se manifestam com hiperexcitação do sistema nervoso, seguido de espasmos, paralisia e morte (ANADÓN *et al.*, 2020; ANDERSON; DUBETZ; PALACE, 2015; KHIDKHAN *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020).

Ao contrário da sua molécula precursora (nicotina), os neonicotinoides apresentam baixa toxicidade para mamíferos, devido à maior afinidade com os receptores nicotínicos dos insetos (HOVDA; HOOSEN, 2002). Entretanto, são considerados altamente tóxicos para abelhas, borboletas e insetos aquáticos, motivo pelo qual foram banidos da União Europeia em 2018 (ANADÓN *et al.*, 2020; ARAÚJO *et al.*, 2015; DE MONTAIGU; GOULSON, 2020; VANBERGEN *et al.*, 2013; WOODCOCK *et al.*, 2016; WOOD; GOULSON, 2017). Além disso, são moderadamente persistentes no ambiente e altamente solúveis em água, havendo possibilidade de contaminação dos corpos hídricos quando utilizados indiscriminadamente (BATIKIAN *et al.*, 2019; HILTON; JARVIS; RICKETTS, 2016; SAGGIORO *et al.*, 2019).

Atualmente, esses compostos representam a classe de pesticidas mais vendida no mercado global (JESCHKE *et al.*, 2010; SGOLASTRA *et al.*, 2020). Além disso, também são utilizados na medicina veterinária para controle de pulgas e como pesticidas para controle de pragas domésticas (DRYDEN *et al.*, 2011; PISA *et al.*, 2015).

Os princípios ativos pertencentes a este grupo disponíveis no Brasil, com importância em medicina veterinária, são imidaclopride, nitempiram e dinotefuran (DRYDEN *et al.*, 2011). O imidaclopride, molécula precursora no mercado veterinário, já demonstrou altos níveis de eficácia em diversos estudos realizados para o controle de *C. felis felis* em animais e ambientes domésticos (HOPKINS *et al.*, 1996; JACOBS; HUTCHINSON; KRIEGER, 1997; RUST, 2005). Resultados satisfatórios de eficácia também foram relatados por Brandão (2004) e Rust (2005), em estudos realizados a partir da administração do nitempiram por via oral, demonstrando uma capacidade pulicida de aproximadamente 95% após 6 horas de tratamento. Além dessas moléculas, o dinotefuran isoladamente também apresentou eficácia comprovada sobre adultos de *C. felis felis*, a partir de um estudo *in vitro* utilizando cinco concentrações do produto, porém, apresentou atividade parcial frente aos ovos dessa mesma subespécie (AZEVEDO, 2007).

### **2.3.2.6 Espinosinas**

As espinosas são moléculas inseticidas extraídas a partir da fermentação aeróbica de uma bactéria de solo denominada *Saccharopolyspora spinosa*. Foram descobertas na década de 90 e são muito utilizadas no combate de pragas agrícolas de difícil controle. Os principais ativos

pertencentes à essa classe são denominados espinetoram e espinosade, sendo o último o único composto de importância médica veterinária no Brasil (BLAGBURN *et al.*, 2010; KIRST *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SNYDER *et al.*, 2007). O espinosade apresenta excelente eficácia adulticida frente a *C. felis felis*, além de apresentar resultados satisfatórios na redução do número de ovos e na emergência de adultos (BLAGBURN *et al.*, 2010; SNYDER *et al.*, 2007; WOLKEN *et al.*, 2012).

Essas substâncias, assim como os neonicotinoides, também se ligam aos receptores de acetilcolina, porém essa ligação ocorre em locais distintos. As espinosas atuam como moduladores alostéricos dos receptores nicotínicos de acetilcolina, ou seja, modulam a conformação da proteína receptora, tornando-a mais ativa. Como resultado, ocorre ativação prolongada das proteínas receptoras de acetilcolina, gerando impulsos nervosos contínuos que acarretam em hiperexcitação do sistema nervoso, tremores, paralisia muscular e morte dos insetos (KIRST *et al.*, 2002; WOLKEN *et al.*, 2012).

Esse grupamento necessita de doses relativamente altas para causarem toxicidade em mamíferos e organismos não alvos, por isso são categorizados como um dos inseticidas mais seguros já descobertos. Além disso, são pouco persistentes no ambiente e, apesar de serem estáveis em água, apresentam baixa toxicidade para organismos aquáticos quando utilizados corretamente (BAILEY *et al.*, 2005; THOMPSON *et al.*, 2000; WOLKEN *et al.*, 2012).

### **2.3.2.7 Oxadiazinas**

As oxadiazinas representam um grupo relativamente novo de inseticidas, inicialmente desenvolvidas para uso na agricultura. No decorrer dos anos, foram inseridas na medicina veterinária para o controle de pulgas, demonstrando ação adulticida satisfatória, além de eficácia na eliminação de formas imaturas (ovos e larvas) de *C. felis felis*. O primeiro e único representante comercial disponível atualmente é denominado indoxacarbe (DRYDEN *et al.*, 2013; LAPIED; GROLLEAU; SATTELLE, 2001; MCCANN *et al.*, 2001).

Seu mecanismo de ação é baseado no bloqueio dos canais neuronais de sódio dos insetos, que ocorre após a sua ingestão ou contato com esse composto, promovendo hiperexcitação, seguido de paralisia muscular e morte (DRYDEN *et al.*, 2013; HALOS *et al.*, 2014; LAPIED; GROLLEAU; SATTELLE, 2001; WING *et al.*, 2000).

Em relação à sua toxicidade, estudos demonstraram que mamíferos exibem uma bioativação mínima, ou seja, o seu metabolito ativo possui uma potência relativamente fraca contra os canais de sódio de mamíferos quando comparado aos efeitos desempenhamos nos

insetos, sendo relativamente seguro nessa espécie (DRYDEN *et al.*, 2013; MCCANN *et al.*, 2001; WING *et al.*, 2000).

### **2.3.2.8 Semicarbazonas**

Semicarbazona é um grupamento inseticida relativamente novo utilizado na medicina veterinária para controle de ectoparasitos dos animais domésticos. O principal ativo pertencente a essa categoria é a metaflumizona, que possui excelente atividade contra uma variedade de insetos, como a pulga *C. felis felis*, além de não apresentar resistência cruzada conhecida a outros produtos químicos comerciais, como organofosforados, carbamatos, piretroides e benzoilfenilureias (DRYDEN *et al.*, 2007; HOLZMER *et al.*, 2007; RUGG; HAIR, 2007; TAKAGI *et al.*, 2007).

Esse composto atua bloqueando os canais de sódio dos insetos, promovendo hiperexcitação nervosa, seguido de paralisia e morte. Para isso, não há necessidade de ativação metabólica, ou seja, a molécula é tóxica em sua forma original (SALGADO; HAYASHI, 2007).

Segundo Pollet *et al.* (2009), efeitos colaterais associados à aplicação correta do fármaco são raros, mas sintomas como sedação transitória e letargia podem ser evidenciados em animais quando o produto é administrado erroneamente. Em contrapartida, casos de pênfigo foliáceo desencadeados pela administração de um produto “spot-on” contendo metaflumizona e amitraz em cães podem ser encontrados na literatura (OBERKIRCHNER *et al.*, 2011a, 2011b).

### **2.3.2.9 Isoxazolinas**

As isoxazolinas são uma nova classe de ectoparasiticidas, inseridas em 2013 no mercado veterinário (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020). Inicialmente foram indicadas para o controle e prevenção de pulgas e carrapatos em animais de companhia, porém, posteriormente, também demonstraram excelente eficácia acaricida (CAMPOS *et al.*, 2020; RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020; SHOOP *et al.*, 2014; TAENZLER *et al.*, 2017). Atualmente, também têm sido utilizadas como antiparasitários frente a outros artrópodes que afetam a agricultura e a pecuária (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020).

Seu mecanismo de ação está relacionado com a inibição do GABA e canais de cloreto dependentes de glutamato (CAMPOS *et al.*, 2020; GASSEL *et al.*, 2014; WALTHER *et al.*, 2014). Após o repasto sanguíneo dos insetos nos hospedeiros tratados, ocorre um bloqueio funcional dos canais de cloreto ligando-se aos ligantes do receptor (GABA e receptores do glutamato) no sistema nervoso, promovendo a morte desses parasitos (RODRIGUEZ-VIVAS

*et al.*, 2020). Esses compostos apresentam seletividade significativa para o bloqueio de receptores de artrópodes, quando comparados aos receptores de mamíferos (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020).

Os principais representantes inseridos nesse grupamento são: fluralaner, afoxolaner, sarolaner e lotilaner (BEUGNET; LIEBENBERG; HALOS, 2015; BURGIO; MEYER; ARMSTRONG, 2016; KUNKLE *et al.*, 2014).

Segundo o estudo realizado por Dryden *et al.* (2018), a aplicação única de fluralaner por via tópica em gatos submetidos à um ambiente infestado por populações de pulgas apresentou resultados consideravelmente mais eficazes do que a utilização consecutiva de selamectina nesses animais, porém, ao avaliar a eficácia do tratamento em cães, não observaram diferença significativa no controle das pulgas entre os dois produtos.

Até o presente momento, não há relatos na literatura sobre resistência às isoxazolinas em pulgas, ácaros e carrapatos que afetam os animais domésticos (OTRANTO, 2014). Além disso, essas moléculas apresentam alta seletividade para artrópodes, segurança favorável em vertebrados e parecem não apresentar resistência cruzada com outros antiparasitários que atuam nos receptores GABA (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020; WALTHER *et al.*, 2014; WILLIAMS *et al.*, 2014).

Embora as isoxazolinas sejam relativamente seguras na maioria dos animais domésticos, casos esporádicos de intoxicação por overdose já foram relatados em cães (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2020).

### **2.3.2.9.1 Reguladores de crescimento de artrópodes**

Os reguladores de crescimento são produtos capazes de interferir no desenvolvimento das formas imaturas dos artrópodes, atuando por meio de dois mecanismos de ação: podem inibir a síntese de quitina (ISQ), impedindo o desenvolvimento normal da cutícula e de outras estruturas quitinosas do parasito, provocando a mortalidade das formas imaturas durante as ecdises (MILLER *et al.*, 2001; SCOTT *et al.*, 2002); ou atuar como análogos do hormônio juvenil (AHJ), alterando de forma gradual o crescimento do artrópode, gerando estágios imaturos (larvas e ninfas) anômalos (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DE OLIVEIRA *et al.*, 2012; GRAF, 1993; GRAF *et al.*, 2004; RUST, 2005; RUST; DRYDEN, 1997; SCOTT *et al.*, 2002; TAYLOR, 2001).

Os principais representantes do grupamento ISQ pertencem a classe das benzofenilureias, tais como: luferuron, fluazuron e diflubenzuron (TAYLOR, 2001). O lufenuron é o principal composto utilizado para o controle de pulgas em animais de companhia, sendo capaz de inibir a emergência dos adultos por até seis meses, de acordo com estudos presentes na literatura (CADIERGUES *et al.*, 1999; RUST, 2005). No entanto, ainda não existem relatos que comprovem a eficácia do fluazuron e diflubenzuron no controle de pulgas em cães e gatos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012, 2013).

Dentre os principais representantes do grupamento AHJ, podemos destacar o piriproxifen e metoprene. O piriproxifen vem sendo amplamente empregado no controle de insetos, como pulgas (*Oropsylla hirsuta* e *Ctenocephalides felis felis*) e mosquitos (*Culex* sp. e *Aedes aegypti*). Esse juvonoide atua sobre as pulgas afetando o desenvolvimento de ovos, larvas e pupas, além disso, pode afetar a capacidade reprodutiva de qualquer fêmea sobrevivente (ECKER; HEMSARTH, 2016; MEOLA; DEAN; BHASKARAN, 2001; MEOLA *et al.*, 2000; RUST, 2005). Nas últimas décadas, o metoprene também vem sendo utilizado para o controle de *C. felis felis*, destacando-se pela excelente eficácia ovicida (PALMA; MEOLA, S.; MEOLA, R., 1993).

Esses compostos vieram como alternativa para suprir a necessidade de ativos capazes de controlar populações de ectoparasitos resistentes aos acaricidas clássicos, decorrente do uso incorreto e indiscriminado dos mesmos. Além disso, apresentam espectro de ação restrito, maior seletividade a inimigos naturais, baixa toxicidade para mamíferos e vertebrados, rápida fotodegradação e baixa persistência residual, características que agregam positivamente para a sua utilização (GRAF, 1993; GRAF *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2012; SCOTT *et al.*, 2002; TAYLOR, 2001). Apesar disso, possuem pouca eficácia frente a parasitos adultos, sendo corriqueiramente utilizados em associação com outras substâncias adulticidas, visando interromper reinfestações contínuas dos animais após o período de tratamento (DRYDEN *et al.*, 2007; SCOTT *et al.*, 2002).

### **2.3.3 Controle biológico**

O controle biológico é uma técnica que utiliza meios naturais para a redução de uma população alvo potencialmente capaz de provocar danos econômicos, além de ser recomendada para a redução de insetos transmissores de doenças, combate de plantas daninhas, patógenos agrícolas e nematoides. Esse mecanismo baseia-se em predação, parasitismo, herbivoria ou em

outros meios naturais, realizados através de organismos como insetos, nematoides, protozoários, bactérias, fungos e vírus (HOGSETTE, 1999; MELO; AZEVEDO, 1998).

A estratégia é considerada vantajosa tanto por reduzir os casos de resistência aos produtos antiparasitários corriqueiramente utilizados no mercado, quanto pelo baixo custo na sua aplicabilidade, servindo como uma alternativa econômica e ecologicamente viável (HOGSETTE, 1999; MELO *et al.*, 2007; VALADARES-INGLIS; SHILER; SOUZA, 1998).

Estudos disponíveis na literatura demonstram que os fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, presentes naturalmente nos solos de todo o mundo, são eficazes no controle biológico da pulga *C. felis felis* (BITTENCOURT; MASCARENHAS; FACCINI, 1999; MELO *et al.*, 2007). Outros organismos entomopatogênicos também já foram estudados, como os nematoides *Neoaplectana carponcapsae* e *Steinernema carponcapsae* (COLES; DRYDEN, 2014).

#### **2.3.4 Controle com química verde**

Atualmente, o controle de ectoparasitas de importância médica veterinária ainda depende muito da utilização de produtos químicos (FREITAS; BARROS; DE CARVALHO, 2019), contudo, a busca por moléculas naturais e alternativas vêm aumentando consideravelmente nos últimos anos, visando a produção de pesticidas naturais (biopesticidas) com percentuais satisfatórios de eficácia, além de um impacto de degradação ambiental mínimo; boa margem de segurança para os animais, homem e inimigos naturais; baixa resistência; baixo poder residual e viabilidade econômica, despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores para a utilização de subprodutos de plantas, dentre eles OEs (COOP *et al.*, 2002; DONAHUE *et al.*, 1997; OGUCHI *et al.*, 2019a; RAMSEY *et al.* 2020; TAYLOR, 2001; VIEGAS-JÚNIOR, 2003; ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2014).

Os OEs são misturas de compostos orgânicos voláteis produzidos como metabólitos secundários em plantas. São constituídos por hidrocarbonetos (terpenos) e compostos oxigenados (álcoois, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenois e éteres fenólicos) (ISMAN, 2006; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; RAMSEY *et al.*, 2020).

Os terpenos, também denominados terpenoides ou isoprenoides, abrangem a maior e mais importante classe de substâncias derivadas de plantas, fungos e organismos marinhos. Eles são classificados de acordo com a sua unidade de isopreno em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos, tetraterpenos e polisoprenoides (DE SOUZA *et al.*, 2021).

Esses compostos secundários, extremamente úteis para a defesa e proteção das plantas, apresentam uma grande diversidade estrutural dependendo do processo de extração ou da origem da planta (GARCEZ *et al.*, 2013; RAMSEY *et al.*, 2020).

A sua extração pode ocorrer de diversas partes das plantas, como raízes, caules, folhas, flores, cascas e até mesmo frutos. Para isso, algumas técnicas podem ser realizadas, como: hidrodestilação, extração por CO<sub>2</sub> e arraste a vapor d'água, sendo esta última a mais frequentemente empregada (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2017; SAITO; SCRAMIN, 2000; VIEGAS-JUNIOR, 2003).

Sua biossíntese é determinada geneticamente, porém, fatores bióticos e abióticos podem influenciar de maneira direta ou indireta na sua produção, além disso, pode sofrer variação de localização e alocação de acordo com a espécie (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2017). Outra característica importante é o fato de uma mesma espécie de planta poder apresentar concentrações e compostos secundários distintos, isso ocorre devido a capacidade de interferência de algumas variáveis, tais como: fatores genéticos intrínsecos à planta, época do ano, estágio de desenvolvimento, ritmo circadiano, sazonalidade, tratos culturais e interação inseto-planta (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2017).

Dentre a composição dos OEs, os terpenos encontrados com maior frequência são os monoterpenos e sesquiterpenos (CASTRO *et al.*, 2004; LOAYZA *et al.*, 1995), metabólitos que, por possuírem moléculas menores e com baixo peso molecular, são mais voláteis e conferem as características organolépticas das plantas, além de proporcionar proteção natural contra insetos, raios ultravioletas e outros predadores (CASTRO *et al.*, 2004; GARCEZ *et al.*, 2013; ISMAN, 2006; RAMSEY *et al.*, 2020).

Os monoterpenos são hidrocarbonetos formados por duas unidades de isopreno, podendo ser cílicos ou ramificados. Estes compostos encontram-se em grande quantidade nos OEs e a maioria apresenta baixa toxicidade para os mamíferos (KLOCKE; DARLINGTON; BALANDRIN, 1987; RICE; COATS, 1994). Devido à segurança na sua utilização, muitos desses compostos têm sido considerados como alternativas potenciais aos inseticidas comerciais sintéticos, além disso, podem ser utilizados na fabricação de diversos produtos, como perfumes, condimentos artificiais, aromatizantes de alimentos, xampus, produtos para cabelo, sabonetes antissépticos e medicamentos, tais como expectorantes, descongestionantes e analgésicos (KLOCKE; DARLINGTON; BALANDRIN, 1987; RAMSEY *et al.*, 2020; WINDHOLZ, 1998). É considerado um dos principais componentes presentes em OEs que conferem atividade repelente, assim como os sesquiterpenos e álcoois. Os seus compostos

repelentes incluem a-pineno, cineol, eugenol, limoneno, terpinoleno, citronelol, citronelal, cânfora e timol (RAMSEY *et al.*, 2020).

Os sesquiterpenos são substâncias estruturalmente formadas por três unidades de isopreno, contendo um esqueleto de cinco carbonos em cada. Esses compostos, também presentes em abundância nos OEs, apresentam baixa solubilidade em água e em soluções alcoólicas diluídas, além de apresentarem rápido poder de oxidação, o que pode conferir desvantagens para algumas formulações (DE SOUZA *et al.*, 2021). Além da sua atividade repelente e inseticida, são conhecidos pelos seus potenciais benefícios à saúde, atuando como substâncias antibacterianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e antivirais. Sua capacidade de atuar no processo de desintoxicação hepática, estimulação das funções glandulares e aumento do aporte de oxigênio para as glândulas pituitária e pineal também já foi relatada (ANDREI; DEL COMUNE, 2005; RAMSEY *et al.*, 2020; VIEGAS JÚNIOR, 2003).

A utilização de OEs no tratamento de problemas cardiovasculares, doença de Alzheimer, distúrbios do sono, estresse, cânceres e alívio das dores do parto também pode ser encontrada na literatura (RAMSEY *et al.*, 2020).

O seu mecanismo de ação pode sofrer variações ou até mesmo apresentar um sinergismo de ações dentro de uma única espécie. Os OEs são capazes de interferir em várias funções bioquímicas, fisiológicas e comportamentais de um inseto, passando facilmente através da sua membrana celular. Podem atuar como substâncias inseticidas, promovendo a morte por contato; substâncias repelentes, impedindo a aproximação do inseto; e como reguladores de crescimento, promovendo a inibição do desenvolvimento (ID) larval e até mesmo redução da fertilidade do adulto ou inibição da oviposição (ISMAN, 2006; OGUH *et al.*, 2019a; PAPACHRISTOS *et al.*, 2004; PHILLIPS; APPEL; SIMS, 2010; RATTAN, 2010).

A indústria de OEs tornou-se um mercado altamente operante e lucrativo na última década (RAMSEY *et al.* 2020). Porém, historicamente, os efeitos pesticidas de substâncias vegetais já vêm sendo utilizados contra artrópodes desde os primórdios da humanidade (BENELLI *et al.*, 2015; KARUNAMOORTHI; ILANGO; ENDALE, 2009; OGUH *et al.*, 2019a).

A atividade inseticida e repelente de OEs provenientes de diversas espécies de plantas já foram estudadas, principalmente frente a pragas de grãos armazenados (RAJENDRAN; SRIANJIINI, 2008). Segundo Cosimi *et al.* (2009), plantas aromáticas e seus OEs são os mais eficientes inseticidas vegetais, pois estes, muitas vezes, constituem a fração ativa dos extratos vegetais.

Diversos OEs extraídos de plantas com propriedades repelentes promissoras frente a artrópodes hematófagos já foram descritas, dentre elas, os gêneros *Cymbopogon* spp., *Ocimum* spp. e *Eucalyptus* spp. são amplamente citados (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; RAMSEY *et al.*, 2020). Porém, na maioria dos trabalhos publicados, os bioensaios foram realizados frente a espécies de Diptera com importância em saúde pública, tais como os dos gêneros: *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

Govere *et al.* (2000) avaliaram a eficácia repelente *in vitro* de três plantas locais (*Lippia javanica*, *Pelargonium reniforme* e *C. excavatus*) contra o mosquito *A. arabiensis*, obtendo 100% de eficácia com a utilização do OE de *C. excavatus* durante duas horas de desafio, reduzindo a eficácia para 59,3% após o tempo de 4 horas. A repelência de óleos voláteis de *Curcuma longa* (açafrão), *Citrus hystrix* (limão kaffir), *C. winterianus* (capim citronela) e *O. americanum* (manjericão) contra três mosquitos vetores (*Ae. aegypti*, *A. dirus* e *C. quinquefasciatus*), em condições de gaiola, foram avaliados por Tawatsin *et al.* (2001), obtendo uma capacidade repelente de até 8 horas quando adicionados à 5% de vanilina, com exceção do OE de *C. hystrix*, que apresentou eficácia somente de 3 horas. O OE de *O. selloi* diluído em etanol (10% v/v), utilizado em um teste de campo com 6 indivíduos voluntários, também demonstrou ser um repelente eficaz frente ao mosquito *A. brasiliensis*, reduzindo o número médio de picadas registradas durante 30 minutos após a sua aplicação (DE PAULA; GOMES-CARNEIRO; PAUMGARTTEN, 2003). Segundo um estudo publicado por Senthooraja *et al.* (2021), o OE de *O. basilicum* e seus constituintes majoritários metil chavicol (70,93%) e linalol (9,34%), apresentaram grande capacidade ovicida, adulticida e repelente frente à *Musca domestica*, servindo como uma alternativa para o manejo integrado da espécie. As propriedades repelentes de subprodutos de plantas do gênero *Eucalyptus* também estão bem documentadas, apresentando eficácia satisfatória contra os mosquitos *A. stephensi*, *Ae. albopictus* e *Mansonia* sp. segundo Hadis *et al.* (2003), Sheikh *et al.* (2021) e Yang e Ma (2005), respectivamente, como também demonstrou efeito acaricida e repelente frente a carapatos, segundo Goswami *et al.* (2022) e Madreseh-ghahfarokhi *et al.* (2019).

A propriedade acaricida e repelente de outros OEs contra carapatos também já foram relatados (NWANADE *et al.*, 2020). A utilização de alguns OEs e extratos obtidos de diversas plantas foram capazes de matar ou atuar como inibidores de desenvolvimento de carapatos, conforme demonstrado em estudos publicados por Ajith *et al.* (2019) e Villarreal *et al.* (2017), utilizando a técnica de imersão com OE de *Cuminum cyminum* e extrato de *Ageratum conyzoides*, respectivamente, frente a adultos de *Rhipicephalus microplus*. Para a fase larval,

extratos de *Senna italica*, *Calpurnia aurea* e *Cissus quadrangularis* demonstraram efeitos acaricidas superiores a 96% frente a *R. microplus*, segundo um estudo in vitro publicado por Wellington *et al.* (2017). Em outro ensaio *in vitro*, os OEs de *Bursera graveolens* e *Schinus molle* foram 100% eficazes contra as mesmas larvas (REY-VALEIRÓN *et al.*, 2017). Ferreira *et al.* (2017) também demonstraram a eficácia *in vitro* do OE de *S. aromaticum* frente a *R. microplus*, resultando em 100% de mortalidade larval e de adultos nas concentrações de 5mg/ml e 100mg/ml, respectivamente. A atividade repelente de OEs e extratos vegetais, por sua vez, foi relatada por Mawela *et al.* (2019) a partir de ensaios clínicos com extratos de *Rothecea glabrum* contra adultos de *R. appendiculatus*, obtendo 100% de eficácia por até 50 minutos de desafio. Resultados satisfatórios com OEs de *Anthemis melampodina* e *Anthemis scabricularis* frente a ninfas de *Amblyomma americanum* também foram publicados por Yusufoglu *et al.* (2018), obtendo porcentagens de 80% e 96,7% de eficácia repelente, respectivamente, após 15 horas de desafio.

Apesar dos pesticidas naturais apresentarem diversas vantagens de utilização, há alguns pontos que precisam ser considerados. Os biopesticidas, em sua maioria, podem ser rapidamente degradados quando em contato direto com a luz solar, motivo pelo qual aconselha-se o armazenamento em locais fechados (OGUH *et al.*, 2019a). As condições extremas de pH (altamente ácido ou alcalino) também são capazes de proporcionar a quebra das moléculas ou acelerar o seu processo de degradação (KOLE; BANERJEE; BHATTACHARYYA, 2002; OGUH *et al.*, 2019a). Além disso, alguns pesticidas naturais também apresentam certo grau de toxicidade, porém, ainda são considerados mais seguros e ecologicamente viáveis do que os pesticidas sintéticos, como é o caso da nicotina, utilizada como pesticida natural nas folhas de tabaco (EL-WAKEIL; GAAFAR; VIDAL, 2006; OGUH *et al.*, 2019a). O armazenamento adequado é um fator que desempenha um papel importante no nível toxicidade, devido aos produtos de oxidação gerados a partir da exposição à luz e/ou ao ar (LEMMENS-GRUBER, 2020).

A maioria dos efeitos colaterais associados ao seu uso são brandos, mas já houve casos de reações tóxicas graves, incluindo abortos e anormalidades na gravidez, dermatite de contato, cefaleia, neurotoxicidade, imunotoxicidade, irritabilidade ocular, hiperatividade brônquica, hepatotoxicidade e desregulação endócrina, levando a quadros de ginecomastia pré-puberal e telarca precoce (DIAZ *et al.*, 2016; RAMSEY *et al.*, 2020; TISSERAND; YOUNG, 2013). A utilização comercial da citronela, por exemplo, foi proibida desde 2006 na Europa e Canadá devido à presença de metil eugenol, uma substância que demonstrou características

carcinogênicas em estudos realizados com animais (RAMSEY *et al.*, 2020; TAN; NISHIDA, 2012).

Em síntese, apesar de serem substâncias naturais, devem ser utilizadas com cautela, seguindo rigorosamente o modo de aplicação e precauções estabelecidas (EL-WAKEIL; GAAFAR; VIDAL, 2006; OGUH *et al.*, 2019a).

## **2.4 Uso de óleos essenciais no controle de *Ctenocephalides felis felis***

O uso de plantas como repelentes de insetos já foi citado na literatura greco-romana há décadas atrás, onde o pesquisador Caio Plínio e o médico Dioscorides registram o uso de losna (*Artemisia absinthium*) como um eficaz repelente de mosquitos e pulgas (BUENO; ANDRADE, 2010; GUPTA; RUTLEDGE, 1994). No decorrer dos anos, outros estudos visando a atividade de diversos OEs frente a pulga *C. felis felis* foram realizados e relatados na literatura.

Recentemente, um estudo publicado por Oliveira *et al.* (2022) demonstrou que os bioensaios realizados para avaliar uma formulação “spray” contendo OE de *O. gratissimum* e eugenol obtiveram resultados satisfatórios frente a estágios imaturos e adultos de *C. felis felis*, resultando em uma atividade pulicida após 24 horas e efeito residual contra pulgas por até 48 horas de desafio.

Freitas *et al.* (2021) também avaliaram a eficácia e o efeito residual dos OEs de *Illicium verum* e *Pelargonium graveolens* através de ensaios *in vitro* utilizando estágios imaturos e adultos *C. felis felis*. A atividade pulicida de *I. verum* perdurou por um período aproximado de 18 dias, alcançando percentual acima de 70% até o 9º dia do experimento, enquanto a atividade inseticida de *P. graveolens*, que perdurou por aproximadamente 13 dias, obteve 41,7% até o 2º dia.

Na pesquisa *in vitro* realizada por Conceição *et al.* (2020a), na qual realizaram um estudo comparativo entre a atividade pulicida do OE de *Cinnamomum cassia* e do seu constituinte majoritário cinamaldeído frente *C. felis felis*, demonstraram que após 24 horas de exposição o OE de *C. cassia* apresentou mortalidade de 5, 55 e 100% nas concentrações de 6,25; 12,5; e 200 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente, já o cinamaldeído, apresentou mortalidade de 5, 50 e 100% nas concentrações de 6,25; 50,0 e 400 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Apesar de ambos demonstrarem atividade inseticida satisfatória, o OE de *C. cassia* apresentou mortalidade de 100% em concentrações inferiores.

Lambert *et al.* (2020), ao avaliarem o potencial pulicida *in vitro* do OE de *Syzygium aromaticum* e do seu componente majoritário eugenol, concluíram que ambos apresentaram eficácia frente a *C. felis felis*, além de atuarem como inibidores da maturação de ovos dessa subespécie.

Dos Santos *et al.* (2020), através de estudos *in vitro*, avaliaram a atividade inseticida dos OEs de *Alpinia zerumbet*, *Cinnamomum* spp., *Laurus nobilis*, *Mentha spicata*, *O. gratissimum* e *C. nardus* contra estágios imaturos e adultos da pulga *C. felis felis*. Os resultados do bioensaio demonstraram que o OE de *O. gratissimum* foi o mais eficaz contra todos os estágios da pulga, apresentando atividade adulticida ( $CL_{50} = 5,85\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), ovicida ( $CL_{50} = 1,79\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e larvicida ( $CL_{50} = 1,21\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) mesmo em doses baixas.

Durante outro experimento *in vitro*, Batista *et al.* (2016) avaliaram a atividade do OE de *Schinus molle* frente a ovos e adultos de *C. felis felis*, extraídos a partir dos frutos e folhas da planta. Apesar de não obterem bons resultados contra ovos da pulga, alcançaram 100% de eficácia contra pulgas adultas com  $800\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $CL_{50} = 353,95\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e  $50\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $CL_{50} = 12,02\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) do OE, extraídos de frutos e folhas, respectivamente.

A utilização dos OEs e seus constituintes majoritários têm sido relatados como uma alternativa em potencial à utilização dos inseticidas sintéticos, porém, novos estudos visando a formulação de biopesticidas seguros e eficazes frente a pulgas ainda são necessários, principalmente no controle da espécie *C. felis felis*.

## 2.5 *Cymbopogon* spp.

O gênero *Cymbopogon*, pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae e tribo Andropogoneae, é caracterizado por possuir uma grande variabilidade morfológica e química na sua composição. É constituído por aproximadamente cento e quarenta espécies distintas, cuja maioria são claramente diferenciadas dos gêneros relacionados na tribo por serem aromáticas. Essas plantas são vastamente utilizadas nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e químicas (BARBOSA, 2007; GANJEWALA; GUPTA, 2013; GOMES; NEGRELLE; BIASI, 2007). Podem ser naturalmente encontradas pela Europa, África, Ásia, Australásia, Pacífico, América do Norte e América do Sul (AKHILA, 2010; CASTRO *et al.*, 2007; GANJEWALA; GUPTA, 2013; SOENARKO, 1977).

As plantas pertencentes a este gênero são perenes, raramente anuais e com crescimento cespitoso. Possuem colmos eretos, que podem medir de 30 cm até 3 metros de altura. Suas folhas possuem lâminas lineares, com nervuras paralelas e normalmente glabras, e as

inflorescências são em espiguetas, dispostas em panículas (AKHILA, 2010; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

Atualmente, muitas dessas espécies são cultivadas para extração de OEs, com grande importância comercial para cosméticos, repelentes de insetos, condimentos e medicamentos, sendo muito utilizadas na medicina tradicional em alguns países (AKHILA, 2010; AVOSEH *et al.*, 2015; NATH *et al.*, 2002; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; SHAH *et al.*, 2011; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977). Os OEs extraídos de diferentes partes desse gênero apresentam composição química variada e são compostos, principalmente, por monoterpenos cílicos e acíclico, tais como: citral (mistura dos isômeros geranal e neral), geraniol, citronelol, citronelal, linalool, elemol, 1,8-cineol, limoneno, β-carofileno, metilheptenona, acetato de geranila e formato de geranila (GANJEWALA; GUPTA, 2013).

Para obtenção da matéria-prima, as técnicas de cultivo precisam estimular o aumento da produção de biomassa vegetal e proporcionar maior concentração do princípio ativo, sem comprometer o valor terapêutico da planta, para isso, um fator importante é a determinação da melhor época de colheita. A composição dos compostos secundários sofre grandes alterações durante as fases de crescimento da planta, mas também apresenta variação de acordo com outras características, tais como: idade das plantas, estado reprodutivo, condições de cultivo e efeitos hormonais, influenciados tanto pelas estações do ano quanto pelo horário do dia (CASTRO *et al.*, 2010).

Dentre as espécies pertencentes a esse gênero, podemos citar: *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*.

### **2.5.1 *Cymbopogon nardus***

A planta *C. nardus*, popularmente denominada como “citronela”, “capim-citronela” ou “citronela-do-ceilão”, é uma grama perene originária da Ásia tropical (CASTRO *et al.*, 2007; NAKAHARA *et al.*, 2013).

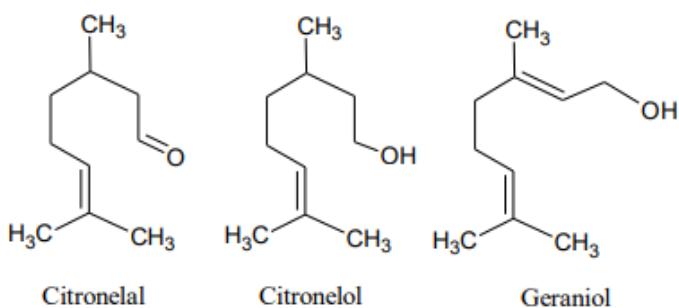


**Figura 1.** Cultivo da espécie *Cymbopogon nardus*. Fonte: IndiaMART, 2022.

Essa espécie apresenta grande importância na economia mundial devido à produção de OEs destinados à fabricação de perfumes, bebidas, alimentos, cosméticos e formulação de chás com propriedades calmantes e digestivas (CASTRO et al., 2007; REIS et al., 2006; WEI; WEE, 2013). Outras aplicações já foram relatadas devido a atividade biológica desse gênero, como sua atividade repelente (MUMCUOGLU et al., 2004; SILVA; PELLI, 2020; TAWATSIN et al., 2001; TRONGTOKIT et al., 2005; WONG et al., 2005), fungicida e bactericida (BILLERBECK et al., 2001; MEDICE et al., 2007; NAKAHARA et al., 2013). Essa planta destaca-se por produzir os repelentes mais populares do mundo (TRONGTOKIT et al., 2005).

Tais características são atribuídas pela presença de substâncias voláteis na sua composição, como o citronelal, geraniol e citronelol, considerados os constituintes majoritários da espécie (CASTRO et al., 2007; MAHALWAL; ALI, 2003; TRONGTOKIT et al., 2005).

A figura 2, a seguir, apresenta a estrutura dos compostos majoritários encontrados na composição química do OE de citronela.



**Figura 2.** Estrutura química do citronelal, citronelol e geraniol, compostos majoritários do óleo essencial de *Cymbopogon nardus*. Fonte: BORGES et al., 2021.

Esses metabólitos podem causar efeito de toxicidade nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos (BRATTSTEN, 1998) e, em contrapartida, são considerados de baixa toxicidade para mamíferos, fazendo com que seu uso seja considerado uma alternativa segura (ANSARI *et al.*, 2000).

Borges *et al.* (2021) relataram recentemente o potencial larvicida do OE de *C. nardus* no combate ao mosquito *Ae. aegypti*, através de ensaios *in vitro* realizados na Amazônia Sul-Ocidental. Para isso, as larvas foram submetidas a diferentes concentrações (25 – 400 ppm) do óleo e observadas durante um período de 72 horas, obtendo 100% de eficácia nas concentrações de 125, 200 e 400 ppm após a exposição.

Outro estudo objetivando a redução da população do mosquito *Ae. aegypti* utilizando extrato de *C. nardus* foi publicado por Zulfikar e Sitepu (2019), com enfoque na prevenção da transmissão de doenças causadas por esse artrópode. Durante a pesquisa, os mosquitos foram desafiados através da nebulização com o extrato da planta e a leitura do teste foi realizada após um período de três minutos, obtendo uma porcentagem média de 90% de mortalidade. Após isso, outras cinco repetições do processo foram realizadas, obtendo a maior porcentagem de mosquitos mortos na quarta repetição (100%).

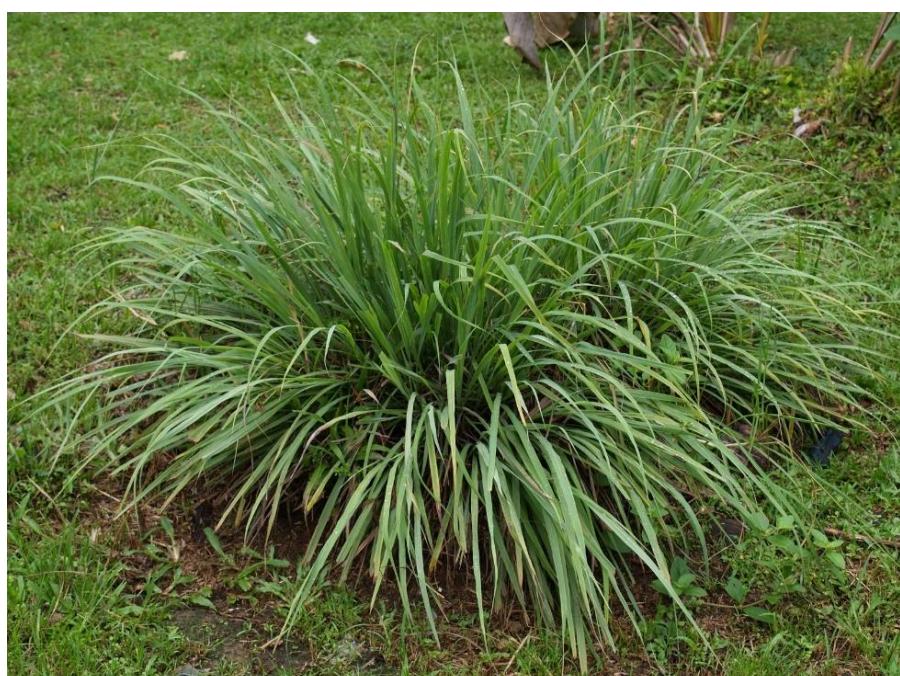
A atividade inseticida do OE *C. nardus* foi descrita por Dos Santos *et al.* (2020) frente a estágios imaturos e adultos de *C. felis felis*. Segundo o estudo *in vitro*, o OE de *C. nardus* apresentou 100% de eficácia para adultos apenas na maior concentração testada ( $800 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), porém, obteve maior sensibilidade frente aos estágios imaturos, alcançando eficácia máxima na concentração de  $400 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Durante outro estudo *in vitro*, Doumbia *et al.* (2014) verificaram a toxicidade de *C. nardus* contra quatro besouros de produtos alimentícios armazenados, tais como *Cryptolestes* sp., *Palorus subdepressus*, *Rhyzopertha dominica* e *Sitophilus zeamais*, comprovando seu

potencial de mortalidade a partir da aplicação tópica em insetos adultos e através do contato com papel filtro impregnado. Os besouros foram imobilizados para a aplicação tópica individual de 2 $\mu$ l de solução (sem diluição) no seu pronoto e a leitura de insetos mortos foi realizada nos tempos de 24 horas e 5 dias, obtendo 100% de eficácia já no primeiro tempo de desafio com o OE. No caso dos insetos colocados em papel filtro tratado, a impregnação ocorreu com 1 ml da solução e a leitura seguiu o mesmo protocolo utilizado nos testes de aplicação tópica, verificando que o OE de *C. nardus* também foi tóxico para todas as espécies testadas.

### **2.5.2 *Cymbopogon winterianus***

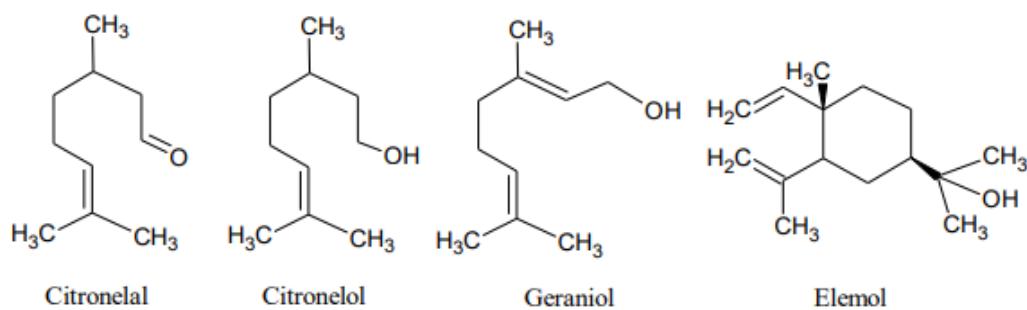
A planta *C. winterianus*, também denominada “citronela”, “cidró-do-paraguai” ou “citronela-de-java”, é um capim perene de origem desconhecida, podendo ser encontrado na Ásia, Índia, Indonésia, Java e Sri Lanka, porém, é cultivado principalmente na indonésia (Figura 3) (PEREIRA *et al.*, 2022; SEDIKELO; LENETHA; MALEBO, 2022). Morfologicamente, essa espécie possui as lâminas das folhas lineares, afinando gradualmente para uma forma alongada (PEREIRA *et al.*, 2022), com bordas cortantes e coloração verde clara, formando uma touceira densa (PROCHNOW, 2018; SEDIKELO; LENETHA; MALEBO, 2022). O seu aroma é demasiadamente forte, característica que permite a sua diferenciação do *C. citratus*, conhecido como capim-limão (PROCHNOW, 2018).



**Figura 3.** Cultivo da espécie *Cymbopogon winterianus*. Fonte: Ekonativa, 2022.

Acredita-se que essa planta tenha se originado da espécie *C. nardus*, tipo Maha Pengiri. As variedades cultivadas de *C. nardus* foram reconhecidas taxonomicamente como Lena Batu e Maha Pengiri, sendo essa última modificada para uma nova espécie por um pesquisador, sendo denominada *C. winterianus*. A partir disso, a espécie foi introduzida em regiões geográficas distintas e passou por modificações genéticas ao longo dos anos, acarretando em maior desempenho no rendimento de ervas, porcentagem de óleo e seus constituintes (SHASANY *et al.*, 2000).

O óleo essencial extraído dessa planta possui alto teor de geraniol, citronelal, elemol e citronelol, considerados os seus componentes majoritários (figura 4). É considerado um dos OEs mais produzidos e importantes no comércio mundial, sendo os Estados Unidos o país de maior importação, seguido da Europa, devido a presença da famosa indústria de perfumaria na França e Alemanha (AKHILA, 2010; BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).



**Figura 4.** Estrutura química do citronelal, citronelol, geraniol e elemol, compostos majoritários do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*. Fonte: BORGES *et al.*, 2021.

No Brasil, essa espécie é bastante conhecida pelos seus efeitos repelentes, principalmente frente a mosquitos (AVOSEH *et al.*, 2015; BENETI *et al.*, 2011; MUNDA; LAL, 2020; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2008; SEDIKELO; LENETHA; MALEBO, 2022), como também por sua atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e anticonvulsivante (MUNDA; LAL, 2020), auxiliando no tratamento de ansiedade e epilepsia (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2008). Porém, outras propriedades também já foram relatadas, como a sua utilização na aromaterapia, formulação de perfumes (MUNDA; LAL, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2008; SEDIKELO; LENETHA; MALEBO, 2022), cosméticos, produtos farmacêuticos (AVOSEH *et al.*, 2015; MUNDA; LAL, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2008), sabonetes (MUNDA; LAL, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022) e detergentes (MUNDA; LAL, 2020).

Recentemente, o potencial leishmanicida e tripanocida *in vitro* do OE de *C. winterianus* frente aos protozoários *Leishmania braziliensis* e *Trypanosoma cruzi*, respectivamente, foi avaliado por Pereira *et al.* (2022). Segundo os autores, o OE testado demonstrou valores de relevância clínica quanto às atividades antipromastigota e antiepimastigota, pois ambos apresentaram  $CL_{50} < 62,5 \mu\text{g/mL}$ .

A utilização de OEs de *C. citratus*, *C. winterianus*, *Eucalyptus citriodora* e *E. camaldulensis* como alternativa para o controle de larvas de *Ae. aegypti* foi relatada por Manh *et al.* (2020), através de um estudo *in vitro* realizado no Vietnã. Após análise dos resultados, concluíram que todos os OEs apresentaram eficácia larvicida frente a essa espécie de mosquito, porém, os OEs de *C. winterianus* ( $CL_{50} = 38,8 \text{ ppm}$ ) e *E. camaldulensis* ( $CL_{50} = 33,7 \text{ ppm}$ ) foram os mais eficientes.

A atividade inseticida do OE de *C. winterianus* também foi relatada há pouco tempo por Rodríguez-González *et al.* (2019), em estudos avaliando a eficácia isolada do OE de *O. basilicum* e *C. winterianus* contra *Acanthoscelides obtectus*, conhecido como Gorgulho-do-feijão. Após o experimento, verificaram que ambos os óleos exibiram padrões semelhantes e satisfatórios de atividade inseticida sobre o inseto, tanto diretamente nos insetos adultos quanto indiretamente sobre as sementes de feijão. Esses OEs foram capazes de reduzir significativamente as perdas de peso do feijão e o número de grãos danificados em doses superiores a 60 ou 120  $\mu\text{L}$  / amostra.

Em um experimento realizado por Deletre *et al.* (2013), em condições de laboratório, avaliaram o efeito repelente, irritante e tóxico de extratos de 20 plantas frente a adultos de *A. gambiae*. Como resultado, os extratos de *C. winterianus*, *C. zeylanicum* e *Thymus vulgaris* demonstraram ser os mais promissores, pois combinaram os três tipos de efeitos, podendo funcionar como repelentes tópicos ou como tratamento para mosquiteiros.

Resultados promissores frente a outras pragas de grãos armazenados também foram relatados anteriormente por Gusmão *et al.* (2013), em um estudo comparando a toxicidade e repelência dos OEs de *Eucalyptus citriodora*, *E. staigeriana*, *C. winterianus* e *Foeniculum vulgare* no manejo de *Callosobruchus maculatus* (caruncho-do-feijão).

Estudos relacionados à atividade do OE de *C. winterianus* frente a pulga *C. felis felis* ainda não estão disponíveis na literatura.

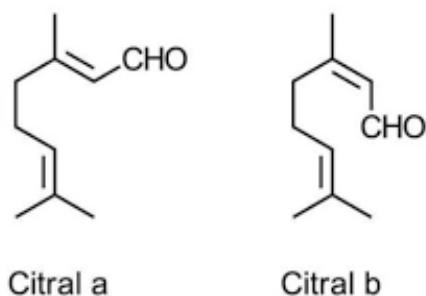
### 2.5.3 *Cymbopogon flexuosus*

A planta *C. flexuosus*, também denominada “capim-limão da índia oriental”, “capim cochin” ou “grama malabar”, é uma grama perene originária da Índia, Sri Lanka, Birmânia e Tailândia. Morfologicamente, essa espécie possui folhas significativamente longas, lineares-lanceoladas, glabras e com estreitamento na base, podendo atingir 50 cm de comprimento e 1,5 cm de largura. A bainha da folha tem forma tubular e atua como um pseudocaule. Possui pilosidade na base da superfície adaxial da folha e a panícula é grande, inclinada e de coloração avermelhada (Figura 5) (GANJEWALA; GUPTA, 2013; PANDEY; RAI; ACHARYA, 2003; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).



**Figura 5.** Cultivo da espécie *Cymbopogon flexuosus*. Fonte: IndiaMART, 2022.

O OE extraído dessa planta possui alto teor de  $\beta$ -Citrál e  $\alpha$ -Citrál em sua composição, também denominados Neral e Geranal, respectivamente (Figura 6) (AKHILA, 2010; AVOSEH *et al.*, 2015; GANJEWALA; GUPTA, 2013; PANDEY; RAI; ACHARYA, 2003). O citral, mistura racêmica da isoforma  $\beta$ -Citrál e  $\alpha$ -Citrál, é o principal constituinte relacionado ao aroma característico de limão desse OE (GANJEWALA; GUPTA, 2013). É reconhecido como um dos OEs mais produzidos mundialmente, juntamente com o de citronela, laranja, hortelã-pimenta e eucalipto (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Apresenta produção anual estimada em 300 toneladas, sendo comumente cultivado na Índia e Indonésia (RAJESWARA RAO, 2013; WANY *et al.*, 2013).



**Figura 6.** Estrutura química do  $\beta$ -Citral e  $\alpha$ -Citral, compostos majoritários do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*. Fonte: BORGES et al., 2021.

Dentre as espécies dentro do gênero *Cymbopogon*, *C. citratus* e *C. flexuosus* são as mais utilizadas na medicina convencional em muitos países, devido ao potencial biológico de seus OEs, extraídos em grande quantidade (AVOSEH *et al.*, 2015).

Na Índia, *C. flexuosus* é amplamente utilizada na formulação de pesticidas, medicamentos anti-piréticos (AVOSEH *et al.*, 2015), cosméticos (AVOSEH *et al.*, 2015; GANJEWALA; GUPTA, 2013) e fragrâncias (GANJEWALA; GUPTA, 2013). Outras aplicações também já foram relatadas, como a utilização dos seus OEs para fabricação de repelentes de insetos (AVOSEH *et al.*, 2015; GANJEWALA; GUPTA, 2013; GÜNDL *et al.*, 2018), substâncias antioxidantes (GANJEWALA; GUPTA, 2013; GÜNDL *et al.*, 2018), anti-inflamatórios, analgésicos (GANJEWALA; GUPTA, 2013; SHARMA *et al.*, 2009), além da sua propriedade anticancerígena, antimicrobiana (GANJEWALA; GUPTA, 2013; GÜNDL *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2009), antifúngica (PANDEY; RAI; ACHARYA, 2003; SHARMA *et al.*, 2009) e anti-helmíntica (GANJEWALA; GUPTA, 2013). No entanto, como desvantagem, possui altas taxas de volatilização e baixa estabilidade na presença de luz, calor, oxigênio e umidade, o que pode conferir limitações em algumas formulações farmacêuticas (GÜNDL *et al.*, 2018).

O capim-limão da índia oriental é comumente confundido com a capim-cidreira (*C. citratus*) devido ao seu perfil químico e aroma semelhantes. Ambos possuem citral na sua composição, porém, o capim cidreira apresenta um teor relativamente mais baixo quando comparado ao teor presente no capim-limão da índia oriental, além de apresentar mircenol na sua composição, o que lhe confere outras propriedades (AVOSEH *et al.*, 2015; RAJESWARA RAO, 2013; WANY *et al.*, 2013).

No experimento realizado recentemente por Dos Santos *et al.* (2022), os autores analisaram o potencial biopesticida *in vitro* dos OEs de *C. flexuosus* e *Alpinia zerumbet* contra

*Callosobruchus maculatus*, demonstrando grande potencial inseticida na utilização desses compostos. No trabalho, os efeitos desses óleos foram baseados em testes de contato, fumigação e repelência. O OE de *C. flexuosus* apresentou maior toxicidade no teste de contato, porém não houve diferença em suas toxicidades encontradas no teste de fumigação. Em relação à repelência, ambos os óleos foram classificados como neutros.

O impacto do OE de *C. flexuosus* e dos seus dois constituintes majoritários (citrал e acetato de geranila) frente ao mosquito *Ae. aegypti* foi avaliado por Castillo-Morales *et al.* (2021). Os ovos foram tratados com 6, 18 ou 30 mg L<sup>-1</sup> e as larvas com 3 ou 6 mg L<sup>-1</sup> de cada composto. De acordo com os autores, o OE influenciou tanto na eclosão quanto no desenvolvimento larval de *Ae. aegypti*. Todas as concentrações de acetato de geranila foram capazes de reduzir o percentual de eclosão, além disso, o citral foi capaz de causar alteração nas ecdises.

Segundo o estudo *in vitro* publicado por Bhatt e Kale (2019), uma formulação à base de OE de *C. flexuosus* conferiu efeito larvicida e antibacteriano frente a fêmeas do mosquito *Anopheles* spp. Para o ensaio, os mosquitos foram desafiados com um tecido de rede nylon tratado com a nanoemulsão do OE. Os tecidos demonstraram uma boa repelência contra os mosquitos, retenção de fragrâncias e eficácia antimicrobiana mesmo após 25 lavagens, embora a porcentagem de mortalidade tenha regredido.

Oliveira *et al.* (2018) também realizaram estudos *in vitro* com objetivo de avaliar a toxicidade do OE de *C. flexuosus* e do seu constituinte majoritário citral frente *Spodoptera frugiperda*, conhecida como lagarta-do-cartucho. Com base nos resultados, verificaram que tanto o OE quanto o composto majoritário isoladamente têm potencial para serem aplicados no desenvolvimento de novos produtos para o controle desse inseto.

Caballero-Gallardo, Olivero-Verbel e Stashenko (2012) demonstraram em seu estudo que o OE de *C. flexuosus* apresentou atividade repelente eficaz frente ao besouro *T. castaneum*. Além disso, apresentou baixa toxicidade, mostrando letalidade inferior a 20% na concentração máxima testada (1,2 µL/cm<sup>2</sup>) e período de exposição (72 h). Estudos relacionados à atividade do OE de *C. flexuosus* frente a pulgas ainda não foram relatados na literatura.

#### **2.5.4 *Cymbopogon martinii***

A planta *Cymbopogon martinii*, também denominada “palmarosa”, é um capim perene nativo do sudeste da Ásia, especialmente Índia e Paquistão, no entanto, é cultivada em diversos

locais do mundo. Morfológicamente, essa espécie possui folhas alternas, ásperas, estreitas e com ápice agudo, formando densas e compactas touceiras. É uma planta resistente à seca e apresenta boa tolerância às condições de salinidade, porém, é sensível a umidades e baixas temperaturas (Figura 7) (ROSA *et al.*, 2010).

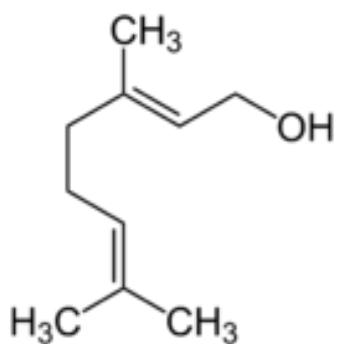


**Figura 7.** Cultivo da espécie *Cymbopogon martinii*. Fonte: Eden Botanicals, 2022.

O OE, extraído de folhas e florações dessa espécie, é bastante valorizado pelo seu aroma floral doce (semelhante ao cheiro de rosas), pelas suas aplicações farmacêuticas e também formulações de produtos de uso doméstico e/ou agrícolas (GANJEWALA; GUPTA, 2013; KUMAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2007; PRASHAR *et al.*, 2003; ROSA *et al.*, 2010; SINHA *et al.*, 2014). Dentro as propriedades promissoras já relatadas, podemos citar a sua utilização na formulação sabonetes e perfumes (DUKE, 1993; GANJEWALA; GUPTA, 2013); repelentes de insetos, como pragas de grãos armazenados e mosquitos (DUKE, 1993; GANJEWALA; GUPTA, 2013; KUMAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2007); anti-helmínticos contra nematoides (KUMARAN *et al.*, 2003), além da sua ação tóxica sobre fungos, bactérias e insetos (BARNARD; XUE, 2004; DUKE, 1993; LIMA *et al.*, 2013; LODHIA; BHATT; THAKER, 2009; MISHRA; KEDIA; DUBEY, 2016; PRASHAR *et al.*, 2003; XAVIER; DA SILVA FRANÇA; CARDOSO, 2020). Na medicina popular é usado para os tratamentos de lombalgia,

articulações rígidas, doenças de pele e em casos de irritações cutâneas (RAO, 1999). A sua utilização no tratamento de infecções do trato urinário, servindo como molécula anti-inflamatória e diurética, também já foi documentado (GANJEWALA; GUPTA, 2013).

Tais atividades são atribuídas principalmente à presença de um alto teor de geraniol em sua composição, considerado o seu constituinte majoritário. Abaixo do geraniol, o segundo composto mais abundante é o acetato de geranila (Figura 8) (KUMAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2007; MALLAVARAPU *et al.*, 1998; PRASHAR *et al.*, 2003; ROSA *et al.*, 2010).



**Figura 8.** Estrutura química do geraniol, composto majoritário do óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.  
Fonte: Google imagens.

Em um estudo realizado por Caballero-Gallardo *et al.* (2012), no qual analisaram isoladamente a atividade repelente e toxicidade dos óleos essenciais de *C. martinii*, *C. flexuosus* e *L. origanoides* frente ao besouro *T. castaneum*, demonstraram que todos os óleos foram eficazes como repelentes, com sua ação diminuindo na ordem *C. martinii* > *C. flexuosus* ≈ *L. origanoides*. Os óleos testados também apresentaram baixa toxicidade, mostrando letalidade inferior a 20% na concentração máxima testada ( $1,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) e período de exposição (72 h).

Tennyson *et al.* (2013), através de ensaios in vitro, avaliaram a atividade larvicida dos OEs de *Cedrus atlântica*, *C. nardus*, *Myrtus caryophyllum*, *E. globulus*, *C. flexuosus*, *C. sinensis*, *Myristica fragrans*, *C. martinii*, *Pinus radiata* e *O. sanctum* frente ao mosquito *Ae. aegypti*. As larvas de terceiro instar foram desafiadas com cada OE nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 ppm, e a mortalidade foi observada após um período de 24 horas. Todos os OEs testados apresentaram eficácia contra as larvas do mosquito, porém, o OE de *Citrus sinensis* apresentou maior atividade larvicida com CL<sub>50</sub> de 85,93 ppm, seguido pelo OE de *Cymbopogon martinii*, que apresentou CL<sub>50</sub> de 88,78 ppm.

Kumar, Srivastava e Dubey (2007) também demonstraram resultados promissores na utilização do OE de *C. martinii* como pesticida botânico na proteção do trigo armazenado

(*Triticum aestivum*) e do grão de bico (*Cicer arietinum*) contra infestações de insetos. O óleo apresentou potente eficácia fumigante e foi considerado um repelente eficaz contra os besouros *Callosobruchus chinensis* e *Tribolium castaneum*, afetando significativamente a oviposição e o desenvolvimento de adultos.

O efeito repelente do OE de *C. martinii* contra o mosquito *A. culicifacies* em condições de campo também já foi relatado por Ansari e Razdan (1994). Para o estudo, os voluntários foram divididos em pares e em dois grupos, o grupo tratado e não tratado. O óleo de palmarosa puro forneceu 100% de proteção aos voluntários tratados durante um período de 12 horas.

Porém, resultados insatisfatórios na utilização do *C. martinii* frente a insetos foram relatados por Lima *et al.* (2013), em estudos realizados para avaliar isoladamente a atividade dos OEs de *C. martini*, *Corymbia citriodora*, *Croton sonderianus*, *L. alba*, *L. gracilis*, *L. sidoides* e *Pogostemon cablin* frente ao cupim *Nasutitermes corniger*, no qual somente os dois últimos apresentaram resultados promissores para novos estudos relacionados ao controle desses cupins no campo. Estudos relacionados à atividade do OE de *C. martinii* frente a pulgas ainda não foram relatados na literatura.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização da experimentação**

O delineamento experimental foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), do Departamento de Parasitologia Animal (DPA), do Instituto de Veterinária (IV), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

#### **3.2 Origem dos óleos essenciais**

Os óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon flexuosus*, obtidos através da grama da planta, e *Cymbopogon martinii*, obtido através das folhas, foram adquiridos comercialmente da empresa ViaAroma® – Porto Alegre, RS; o OE das folhas de *Cymbopogon nardus* foi obtido da empresa Phytoterapica® - São Paulo, SP. Os produtos foram mantidos em frascos de vidro âmbar, protegidos com batoque e tampa de rosca, e acondicionados em freezer em temperatura de 20°C negativos, a fim de reduzir a degradação dos compostos químicos presentes nos mesmos.

O geraniol 98% foi obtido da Sigma-Aldrich® (cód. 163333) mantido em frascos de vidro âmbar, protegidos com batoque e tampa de rosca, e acondicionados em geladeira em temperatura de 4°C.

#### **3.3 Caracterização química dos óleos essenciais**

A análise por Cromatografia Gasosa (CG) foi realizada no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ (LABPAM- UFRRJ), equipado com detector por ionização de chama (FID) e um injector split / split-less, idealizado para separar e detectar os constituintes dos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*.

As substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílica fundida HP- (30 m x 0,25 mm d.i., espessura do filme 0,25 m, Agilent J & W). As temperaturas do forno, injetor e detector foram programadas conforme descrito por Adams (2005). O gás carreador foi o He (1

mL / min). O volume injetado foi de 1 µl 1:20. A percentagem dos compostos do óleo essencial foi calculada a partir da área relativa de cada pico analisado por GC-FID. O óleo essencial também foi analisado em um GC / MS QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN). O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de GC / MS foram os mesmos descritos para GC / FID (ADAMS, 2005). As condições de operação do espectrômetro de massa serão a tensão de ionização a 70 eV e a faixa de massa 40-400 m / z e 0,5 scan / s. O índice de retenção de compostos foi calculado com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos C8-C20 (VAN DEN DOOL; DEC. KRATZ, 1963). Os constituintes foram identificados por comparação de seus espectros de massa com a biblioteca NIST - Mass Spectrometry Data Center, e com aqueles relatados por Adams (2005).

### **3.4 Origem do material biológico**

Todos os estágios (ovos, larvas, pupas e adultos) da pulga *C. felis felis* utilizados neste estudo foram oriundos de uma colônia laboratorial mantida em gatos desde o ano de 1998, localizada nas dependências do LQEPV/DPA/IV - UFRRJ. A colônia foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do IV da UFRRJ (CEUA-IV-UFRRJ) com número de protocolo 4313110419 (ANEXO).

### **3.5 Testes *in vitro* com *Ctenocephalides felis felis***

#### **3.5.1 Resumo do Delineamento Experimental**

Os ensaios *in vitro* para a avaliação da mortalidade dos diferentes estágios de *C. felis felis* pelos quatro OEs e do geraniol aconteceram em duas etapas:

- 1<sup>a</sup> etapa: determinação da atividade inseticida (teste “screening”), onde foi realizado a exposição dos diferentes estágios da pulga *C. felis felis* a uma faixa de 10 diferentes concentrações de cada OE e do geraniol. A faixa de concentração utilizada é a padrão nos ensaios para testes *in vitro* do LQEPV. Todos os testes foram realizados em duplicatas, com um controle positivo, controle negativo e placebo;

- 2<sup>a</sup> etapa: determinação da concentração letal (CL) 50 e 90 (teste definitivo), onde foram selecionadas cinco concentrações a partir da faixa de mortalidade obtida no primeiro teste (screening) para o cálculo de Probit. Os testes foram realizados em sextuplicatas, com um controle positivo, controle negativo e placebo.

Além dos ensaios de avaliação da mortalidade, neste trabalho também foi realizada a avaliação da atividade residual e repelente para as formas adultas de *C. felis felis* para os quatro OEs e o geraniol. O preparo das diluições da metodologia para a execução dos testes *in vitro* para mortalidade e os controles positivos utilizados em cada um dos testes está descrito nos tópicos seguintes.

### **3.5.2 Preparo das soluções**

Para a realização dos testes *in vitro* todos os estágios de *C. felis felis* foram expostos, separadamente, a concentrações pré-determinadas dos OE's de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*, e também do constituinte majoritário geraniol, além de um controle e placebo, que foram preparadas no Laboratório de Farmacometria, localizado nas dependências do LQEPV/DPA/IV - UFRRJ.

Para o preparo das diferentes concentrações dos óleos essenciais, o diluente escolhido foi a acetona 20%. No preparo das concentrações do teste de “screening” foi realizada uma diluição seriada 1:2 com as concentrações de 40.000; 20.000; 10.000; 5.000; 2.500; 1.250; 625; 312,5, 156,25 e 78,12 µg/mL, que após a impregnação correspondeu as concentrações em gramas:área de 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio adulto e para os estágios imaturos. Para os testes definitivos, foi efetuada a diluição direta a partir dos OE's e geraniol, para se obter a faixa de concentrações desejadas (Tabela 1).

Para o teste de eficácia residual foi escolhida a concentração em que foi obtido 100% de mortalidade nos testes definitivos, já no teste de repelência foram utilizadas as concentrações de 40.000; 20.000 e 5.000 µg/mL para os quatro OE's e para o geraniol, que corresponderam a 800; 400 e 100 µg/cm<sup>2</sup> após a impregnação das tiras.

**Tabela 1.** Faixas de concentrações utilizadas nos testes definitivos para os óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol

Estágio	Faixas de Concentrações	
	µg/mL	µm/cm <sup>2</sup>
<b><i>Cymbopogon nardus</i></b>		
Ovo	1.000; 1.500; 2.500; 5.000; 10.000	20; 30; 50; 100; 200
Larva	2.500; 3.000; 4.000; 5.000; 10.000	50; 60; 80; 100; 200
Pupa	5.000; 7.500; 10.000; 15.000; 20.000	100; 150; 200; 300; 400
Adulto	5.000; 15.000; 20.000; 30.000; 40.000	100; 300; 400; 600; 800
ICB	500; 1.000; 1.500; 2.500; 5.000	10; 20; 30; 50; 100
<b><i>Cymbopogon winterianus</i></b>		
Ovo	150; 750; 1.200; 1.500; 1.750	3; 15; 25; 30; 35
Larva	1.250; 1.500; 2.000; 2.500; 2.750	25; 30; 40; 50; 55
Pupa	2.000; 4.000; 8.000; 12.000; 16.000	40; 80; 160; 240; 320
Adulto	15.000; 20.000; 30.000; 35.000; 40.000	300; 400; 600; 700; 800
ICB	150; 600; 750; 1.250; 2.000	3; 12; 15; 25; 40
<b><i>Cymbopogon flexuosus</i></b>		
Ovo	500; 1.250; 2.000; 2.500; 3.000	10; 25; 40; 50; 60
Larva	900; 1.250; 1.500; 2.000; 2.250	20; 25; 30; 40; 45
Pupa	2.000; 4.000; 8.000; 20.000; 22.000	40; 80; 160; 400; 440
Adulto	7.500; 15.000; 20.000; 30.000; 40.000	150; 300; 400; 600; 800
ICB	150; 600; 750; 1.250; 2.000	3; 12; 15; 25; 40
<b><i>Cymbopogon martinii</i></b>		
Ovo	500; 1.000; 1.500; 2.500; 3.000	10; 20; 30; 50; 60
Larva	100; 500; 1.500; 2.000; 3.000	2; 10; 30; 40; 60
Pupa	7.500; 10.000; 15.000; 20.000; 30.000	150; 200; 300; 400; 600
Adulto	2.500; 7.500; 10.000; 20.000; 40.000	50; 150; 200; 400; 800
ICB	100; 500; 1.000; 1.500; 2.000	2; 10; 20; 30; 40
<b>Geraniol</b>		
Ovo	100; 500; 1.000; 1.500; 2.500	2; 10; 20; 30; 50
Larva	500; 1.000; 1.500; 2.000; 2.500	10; 20; 30; 40; 50
Pupa	1.250; 2.500; 5.000; 7.500; 10.000	25; 50; 100; 150; 200
Adulto	2.500; 5.000; 7.500; 15.000; 30.000	50; 100; 150; 300; 600
ICB	50; 100; 250; 500; 1.000	1; 2; 5; 10; 20

Legenda: ICB= Inibição de controle biológico.

Nos testes de avaliação da atividade adulticida, foram usadas fitas de papel filtro whatman nº1 (80g), com área de 10 cm<sup>2</sup> (1x10cm), impregnadas com 0,2 mL de cada solução. Para a avaliação das atividades ovicida, larvicida, pupicida e inibição do ciclo biológico,

utilizou-se discos do mesmo papel filtro com área de 23,76 cm<sup>2</sup>, impregnados com 0,47 mL de cada solução. Nos testes de avaliação da atividade repelente, as tiras do mesmo papel filtro com área de 7 cm<sup>2</sup> (0,7x10cm) foram usadas, impregnados 0,12 mL de cada solução.

Como controle negativo dos testes, os discos ou tiras de papel filtro não receberam qualquer tipo de impregnação. O controle negativo tem como finalidade avaliar a viabilidade das pulgas (adultas ou estágios imaturos) manipuladas nos testes.

Para o placebo usou-se tiras ou discos de papel filtro impregnados com o mesmo volume de impregnação de acetona 20%, utilizada nos testes com as diferentes concentrações de OE's.

Como controle positivo, para os desafios que avaliaram atividade frente pulgas adultas, larvas e pupas, foi utilizado o fipronil na concentração de 400 µg/mL (8 cm<sup>2</sup>), já para os ensaios de ovo e inibição do ciclo biológico foi usado piriproxifen na mesma concentração. No teste de repelência usou-se o N,N-Dietil-m-toluamida (DEET) na concentração de 40.000 µg/mL (800 µg/cm<sup>2</sup>) como controle positivo.

### **3.5.3 Avaliação da atividade inseticida *in vitro* dos óleos essenciais *Cymbopogon nardua*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa e adultos de *Ctenocephalides felis felis***

A metodologia descrita abaixo foi realizada da mesma maneira nos testes de *screening* e nos testes definitivos.

Para a determinação da atividade dos OE's e do geraniol frente a pulgas adultas, foram utilizados 10 casais da pulga *C. felis felis*, não alimentados e com 14 dias de idade, para cada repetição de cada produto testado. Os insetos foram dispostos em um tubo de ensaio (1x10cm) com uma fita de papel filtro impregnada com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no item acima.

Para a avaliação da atividade inseticida frente aos estágios imaturos, foram selecionados 10 exemplares de ovos com idade inferior a 24 horas, 10 larvas com idade entre cinco a sete dias (larvas de terceiro estádio) e 10 pupas com idade de 10 dias de idade, para cada repetição. Estes foram dispostos em placas de petri plásticas (60x15cm) que continham em seu interior o disco de papel filtro impregnado com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no tópico acima.

Após o desafio, o material foi incubado em câmara climatizada do tipo B.O.D (demanda bioquímica de oxigênio) com temperatura e umidade relativa controlada ( $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;  $75 \pm 10\%$ ).

A leitura dos testes foi realizada no tempo de 24 e 48 horas para as pulgas adultas e larvas, 72 horas para ovos e 15 dias para as pupas, após o período de incubação.

O critério de avaliação empregado para pulgas adultas e larvas foi o de motilidade, ou seja, qualquer exemplar que apresentasse um mínimo de motilidade seria considerado vivo. O critério utilizado para os ovos foi o de eclodibilidade, onde qualquer ovo que se apresentasse rompido ou com alteração na sua característica morfológica seria considerado inviável. Já para as pupas, o critério de avaliação utilizado foi o de inibição da emergência e mortalidade de pulgas adultas, ou seja, foi realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário e, através de estimulação manual, o pupário foi rompido para avaliação da viabilidade da pulga adulta ali presente.

Após as avaliações os dados foram tabulados, e foi calculado o percentual de mortalidade para cada concentração utilizando a fórmula descrita por Abbott (1925).

$$\begin{aligned} \text{Mortalidade} = & (\text{número de insetos mortos no tratado} - \text{número de insetos mortos no controle}) \\ & \times 100 / (100 - \text{número de insetos mortos no controle}). \end{aligned}$$

### **3.5.4 Avaliação da atividade *in vitro* na interrupção do ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol**

Para a avaliação da interrupção do ciclo biológico de *C. felis felis*, foram separados 10 exemplares de ovos, com idade inferior a 24 horas, para cada repetição do produto testado. Os ovos foram acondicionados em placas de petri plásticas (60x15cm) que continham em seu interior o disco de papel filtro impregnado com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no item 3.5.2.

Em seguida, foi adicionado meio grama de uma dieta necessária para o desenvolvimento larval, preparada a partir de uma mistura de farelo de trigo, sangue bovino desidratado e areia lavada, na proporção de 1:1:5, conforme descrito por Correia *et al.* (2003). As placas de petri foram fechadas com suas tampas e elástico, e acondicionadas em câmara climatizada com temperatura de  $27\pm1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $75\pm10\%$ , durante um período de 30 dias. Após o período de incubação, o material foi avaliado com o auxílio de um microscópio estereoscópico e foi considerado inviável todo ovo que não fosse capaz de gerar uma pulga adulta.

Após as avaliações, os dados foram tabulados e foi calculado o percentual de mortalidade para cada concentração utilizando a fórmula descrita por Abbott (1925), conforme demonstrado acima.

### **3.5.5 Avaliação da eficácia residual *in vitro* dos óleos essenciais *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis***

Para avaliação da atividade residual dos OE's e do geraniol frente a pulgas adultas, foi utilizada a mesma metodologia descrita no item 3.5.3. Neste caso, foi escolhida a primeira concentração que obteve 100% de mortalidade nos testes definitivos, tais como 40.000 µg/mL / 800 µg/cm<sup>2</sup> para o OE de *C. nardus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*, e 30.000 µg/mL / 600 µg/cm<sup>2</sup> para o OE de *C. martinii* e geraniol.

A avaliação da mortalidade era realizada a cada 24 horas após a exposição ao papel filtro impregnado e, após cada avaliação, as pulgas eram removidas e adicionados novos indivíduos. A avaliação foi realizada até que se obtivesse percentual de mortalidade igual a zero.

### **3.5.6 Eficácia repelente *in vitro* dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis***

A metodologia empregada para a avaliação da atividade repelente *in vitro* dos OE's de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus*, *C. martinii* e do geraniol foi a técnica para determinar a suscetibilidade ou resistência de pulgas com inseticidas descrita pela World Health Organization (1981), adaptada por Su *et al.* (2014).

Para a avaliação da atividade repelente *in vitro*, utilizaram-se tubos de ensaio de vidro (1,4 x 25 cm) e duas longas fitas de papel filtro, que foram identificadas com o nome do OE testado, concentração do produto e sua respectiva repetição.

Em seguida, as fitas de papel filtro foram impregnadas (conforme descrito no item 3.5.2) e após a secagem, uma fita adesiva dupla face transparente foi colada longitudinalmente nas duas tiras de papel filtro impregnadas. Em cada tubo, foram inseridas duas fitas de forma vertical ao tubo e paralelas entre si, uma impregnada com o diluente (acetona 20%) e outra

impregnada com o OE (ou controle positivo). Após fixação das fitas, foram inseridos cinco casais de pulgas dentro de cada tubo e aguardado um período de 30 minutos.

Após o tempo de exposição às fitas impregnadas, foi realizado o registro quantitativo da distribuição dos exemplares nas duas tiras de papel filtro (impregnado com diluente e com o OE) presentes dentro do tubo de ensaio, possibilitando assim, a determinação do percentual de repelência (PR). Para a avaliação da persistência, os exemplares foram removidos dos tubos, novos casais foram introduzidos e novas avaliações foram realizadas nos tempos de 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Após isso, foi calculado o PR.

### **3.5.7 Análise dos dados**

Nos testes em que foi realizado a avaliação da atividade inseticida, após a contagem do número de indivíduos vivos e mortos, foi realizado o cálculo de mortalidade e foi calculado o percentual de mortalidade para cada concentração, utilizando a fórmula descrita por Abbott (1925), demonstrada abaixo:

$$\text{Mortalidade (\%)} = (\text{número de insetos mortos no tratado} - \text{número de insetos mortos no controle}) \times 100 / (100 - \text{número de insetos mortos no controle}).$$

Os dados encontrados no experimento foram tabulados e, os valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> para cada uma das avaliações listadas acima foram calculados estatisticamente por meio da análise Probit, utilizando o programa computacional RStudio Team software (2020, RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA, USA) com intervalo de confiança de 95% ( $p<0,05$ ).

Nos ensaios de repelência, após contabilizado a distribuição das pulgas nas fitas, foi determinado o percentual de repelência a partir da fórmula descrita pela World Health Organization (1981):

$$\text{Repelência (\%)} = (\text{Número de indivíduos na fita com placebo} - \text{Número de indivíduos na fita com OE}) / \text{Número de indivíduos na fita com placebo} \times 100.$$

Os dados de PR foram tabulados e avaliados pelo teste de normalidade de Shapiro-wilkis, como não apresentaram distribuição normal, os dados médios de PR de repelência comparando as diferentes concentrações de um mesmo OE em diferentes tomadas de tempo e

dos diferentes OEs com suas respectivas concentrações e tomadas de tempo foram analisados pelo teste de Kruskall-wallis com intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais

Após a realização da cromatografia gasosa e identificação dos constituintes encontrados na composição dos OEs, foi possível observar que os constituintes majoritários identificados foram: citronelal (26,77%), geraniol (19,38%) e citronelol (15,08%) para *C. winterianus*; citronelal (38,6%), geraniol (19,3%), citronelol (14,1%) para *C. nardus*; geraniol (64,96%) e acetato de geranila (17,19%) para *C. martinii*; e geranal (36,13%), neral (28,91%) e geraniol (10,34%) para *C. flexuosus*. O resultado detalhado do cromatograma está exposto na tabela 2.

**Tabela 2.** Resultado da composição química dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon martinii* e *Cymbopogon flexuosus* (continua)

Constituinte	Composição Química (%)			
	OECW	OECN	OECM	OECF
Limoneno	5.22	---		3.48
Linalol	1.0	1.2	4,99	1.6
Isopulegol	1.49	---	---	---
Citronelal	<b>26.77</b>	<b>38.6</b>	0,33	---
Isopulegol	0.81	---	---	---
Citronelol	<b>15.08</b>	<b>14.1</b>	---	---
Neral	2.30	2.8	0,3	<b>28.91</b>
Acetato de Linalila	0.37	---	---	---
Geraniol	<b>19.38</b>	<b>19,3</b>	<b>64,96</b>	<b>10.34</b>
Geranal	2.70	3.6	0,99	<b>36.13</b>
Acetato de Citronelil	4.35	---	---	---
Eugenol	1.10	---	---	---
Acetato de Geranila	4.40	3.1	<b>17,19</b>	---
Beta-elemeno	1.76	---	---	---
Germacreno-D	2.12	---	---	1.07
Alfa-Muuroleno	0.68	---	---	---
Germacreno A	0.34	---	---	---
Gama-Cadineno	0.81	---	---	---
Delta-Cadineno	2.38	---	---	---
Elemol	3.10	0.9	---	---
Germacreno-D-4-ol	0.76	---	---	---
Gama-eudesmol	0.46	---	---	---
Epi-alfa-cadinol	0.48	---	---	---
Alfa-cadinol	1,7	---	---	---
Mirceno	---	9.0	0,31	---

**Tabela 2.** Resultado da composição química dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon martinii* e *Cymbopogon flexuosus* (continuação)

Constituinte	Composição Química (%)			
	OECW	OECN	OECM	OECF
Citronelato de metila	---	2,2	---	---
β-cariofileno	---	0,7	---	---
Isoborneol	---	1,8	---	
Alfa-pineno	---	---	0,06	0,17
Canfeno			---	0,76
Heptenona	---	---	---	1,18
Cineol-1,8	---	---	0,3	0,48
Pentilbutanoato	---	---	---	0,84
Cânfora	---	---	---	0,56
Cis-carveol	---	---	---	0,15
Alfa-terpineol	---	---	---	0,22
Piperitona	---	---	---	0,15
Acetato de nerila	---	---	---	5,2
Z-cariofileno	---	---	---	3,6
Gama-muuroleno	---	---	---	0,14
Silvestreno	---	---	1,42	---
Ocimeno <(Z)-β	---	---	1,06	---
Ocimene <(E)-β	---	---	1,4	---
Iso-Menthol	---	---	0,02	---
Nerol	---	---	0,52	---
Formato de nerila	---	---	0,14	---
Cariofileno <(E)->	---	---	3,55	---
Alfa-humuleno	---	---	0,26	---
Butanoato de geranila	---	---	0,27	---
Oxido de cariofileno	---	---	0,4	---
Farnesol <(2E,6Z)->	---	---	0,89	---
N.I	0,44	2,7	0,64	5,02

Legenda: OECW = óleo essencial *Cymbopogon winterianus*; OECN = óleo essencial *Cymbopogon nardus*; OECM = óleo essencial *Cymbopogon martinii*; OECF = óleo essencial *Cymbopogon flexosus*.

De acordo com a literatura, a espécie *C. winterianus* apresenta o perfil metabólico mais diferenciado, com os componentes majoritários citronellal, geraniol, citronellol e elemol podendo apresentar uma faixa de variação de 26-36%; 16-84%; 7-15% e 2-10% no seu percentual, respectivamente (AKHILA, 2010; AVOSEH *et al.*, 2015; HANAA *et al.*, 2012; KAKARAPARTHI *et al.*, 2014; SINGH; KUMAR, 2017). Tais resultados corroboram com os valores encontrados no presente estudo.

Resultados semelhantes também foram publicados por Martins (2006), no estudo referente a ação acaricida do OE de *C. winterianus*, encontrando alto teor de citronelal, geraniol

e o citronelol na sua composição. Os resultados indicaram que o citronelal e o geraniol tiveram uma ação acaricida significativamente mais forte que o citronelol.

Outros trabalhos realizados, visando a identificação dos constituintes do OE de *C. nardus* por CG, também demonstraram compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos em sua composição. Segundo Castro *et al.* (2010), o OE extraído de *C. nardus* possui alto teor de citronelal, geraniol e citronelol em sua composição, porém, os percentuais divergem com os valores encontrados no presente trabalho, pois pode ocorrer variação de acordo com a época de colheita da planta. Resultados semelhantes também foram encontrados nos trabalhos publicados por Castro *et al.* (2007) e por Mahalwal e Ali (2003).

No estudo de Kumar, Srivastava e Dubey (2007), a análise cromatográfica do OE de *C. martinii* revelou três compostos principais: geraniol (82,9%), acetato de geranila (7,49%) e linalol (3,1%). Tal análise é compatível com os constituintes majoritários evidenciados nesse estudo, apesar de apresentarem percentuais distintos.

Na pesquisa de Lima *et al.* (2013), analisando a composição química do óleo essencial de *C. martinii*, identificou um total de oito compostos no produto testado, divergindo da composição encontrada no OE do presente trabalho. Porém, também evidenciou altas concentrações de geraniol (78,54%), classificando-o como o componente majoritário.

Rosa *et al.* (2010), analisando o OE de vários estágios de desenvolvimento das inflorescências de palmarosa, observaram que com a maturidade das inflorescências havia um decréscimo significativo no percentual de acetato de geranil em sua composição, em contrapartida, o percentual de geraniol apresentava aumento. Com base na análise cromatográfica, os principais componentes do OE de *C. martinii* foram registrados como geraniol e geranil acetato, apresentando menor quantidade de outros constituintes na sua composição.

O citral está entre os principais componentes presentes no óleo essencial de diversas espécies do gênero *Cymbopogon* (D'AVILA *et al.*, 2016; RANA; DAS; BLAZQUEZ, 2016; SINGH; KUMAR, 2017; WANY *et al.*, 2013), porém, a espécie *C. flexuosus* é a única caracterizada por apresentar somente  $\beta$ -Citrал e  $\alpha$ -Citrál em altas concentrações, enquanto os demais compostos estão presentes em menores quantidades (AKHILA, 2010; AVOSEH *et al.*, 2015). O percentual de  $\alpha$ -Citrál e  $\beta$ -Citrál observados no presente trabalho, corrobora com os valores de referência encontrados na literatura, podendo variar entre 30-45% e 29-50%, respectivamente (AKHILA, 2010; AVOSEH *et al.*, 2015).

Vale ressaltar que a composição química dos OEs e os percentuais dos componentes majoritários encontrados dentro de uma mesma espécie de planta podem sofrer variações em virtude de diversos fatores, como: material vegetal utilizado, fase de crescimento da planta, método de extração, época do ano, horário da colheita, condições de cultivo, modo de secagem do material, fatores ambientais e escolha do genótipo (CASTRO *et al.*, 2010; MORAIS; MARINHO-PRADO, 2018; ROSA *et al.*, 2010), o que justifica as divergências de percentagens encontrados na literatura. Devido a essas características, para a execução dos ensaios *in vitro* no presente estudo, utilizamos OEs comerciais para garantir maior padronização dos constituintes.

#### **4.2 Determinação da atividade inseticida *in vitro* dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon martinii* e do geraniol contra *Ctenocephalides felis felis* – Testes de Screening**

Na primeira etapa deste experimento, foi realizado um teste preliminar (screening) com o objetivo de avaliar a eficácia dos OEs de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*, e do geraniol, frente a pulga *C. felis felis*, permitindo a determinação das faixas de concentrações ideais que seriam utilizadas na realização dos ensaios definitivos para o controle de ovos, larvas, pupas, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga, além da determinação do cálculo de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>.

Como já citado anteriormente, foram testadas 10 concentrações de cada solução e as diluições foram realizadas de forma seriada (1:2) a partir da maior concentração. Os resultados obtidos nos testes preliminares frente a ovos (tabela 3), larvas (tabela 4), pupas (tabela 5) e adultos (tabela 6) de *C. felis felis* estão demonstrados a seguir.

**Tabela 3.** Percentual de mortalidade de ovos da pulga *Ctenocephalides felis felis* expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol durante o teste preliminar, no tempo de 72 horas de desafio.

<b>µg/mL</b>	<b>µg/cm<sup>2</sup></b>	<b>Mortalidade (%)</b>				
		<b>OECN</b>	<b>OECW</b>	<b>OECF</b>	<b>OECM</b>	<b>Geraniol</b>
		<b>72h</b>	<b>72h</b>	<b>72h</b>	<b>72h</b>	<b>72h</b>
<b>Controle negativo</b>		20,0	10,0	5,0	0	10,0
<b>Placebo</b>		20,0	5,0	10,0	0,0	20,0
<b>78,1</b>	<b>1,6</b>	30,0	5,0	5,0	5,0	15,0
<b>156,25</b>	<b>3,12</b>	20,0	10,0	10,0	15,0	20,0
<b>312,5</b>	<b>6,25</b>	45,0	25,0	15,0	10,0	15,0
<b>625</b>	<b>12,5</b>	20,0	35,0	25,0	30,0	45,0
<b>1250</b>	<b>25</b>	40,0	65,00	55,0	95,0	80,0
<b>2500</b>	<b>50</b>	30,0	100,0	95,0	100,0	65,0
<b>5000</b>	<b>100</b>	55,0	100,0	100,0	100,0	95,0
<b>10000</b>	<b>200</b>	70,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>20000</b>	<b>400</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>40000</b>	<b>800</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Controle Positivo</b>		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Legenda: H = horas; OECN = Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*; OECW = Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*; OECF = Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*; OECM = Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

Como pode ser observado, com 72 horas após o desafio, o geraniol e todos os 4 OEs avaliados alcançaram 100% de mortalidade nas duas maiores concentrações analisadas, que corresponde a 400 e 800 µg/cm<sup>2</sup>. Porém, vale ressaltar que os OEs de *C. winterianus* e *C. martinii* já alcançaram este resultado desde a concentração de 50 µg/cm<sup>2</sup>, enquanto o OE de *C. flexuosus* e geraniol atingiram tais taxas a partir da concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup> e 200 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente (tabela 3).

**Tabela 4.** Percentual de mortalidade de larvas da pulga *Ctenocephalides felis felis* expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e Geraniol durante o teste preliminar, nos tempos de 24 e 48 horas de desafio.

<b>μg/mL</b>	<b>μg/cm<sup>2</sup></b>	<b>Mortalidade (%)</b>									
		<b>OECN</b>		<b>OECW</b>		<b>OECF</b>		<b>OECM</b>		<b>Geraniol</b>	
		<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>
<b>Controle negativo</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Placebo</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>78,1</b>	<b>1,6</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>156,25</b>	<b>3,12</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>312,5</b>	<b>6,25</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0
<b>625</b>	<b>12,5</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	5,0	5,0	0,0	0,0
<b>1250</b>	<b>25</b>	0,0	0,0	20,0	30,0	50,0	60,0	40,0	45,0	0,0	0,0
<b>2500</b>	<b>50</b>	0,0	0,0	95,0	95,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0
<b>5000</b>	<b>100</b>	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>10000</b>	<b>200</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>20000</b>	<b>400</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>40000</b>	<b>800</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Controle Positivo</b>		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Legenda: H = Horas; OECN = Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*; OECW = Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*; OECF = Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*; OECM = Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

Todos os OEs analisados, assim como o geraniol, demonstraram atividade larvicida frente a *C. felis felis* nas maiores concentrações utilizadas, já nas primeiras 24 horas após o desafio. As cinco soluções testadas alcançaram 100% de mortalidade a partir da concentração de 200 μm/cm<sup>2</sup>, sendo que os OEs de *C. flexuosus* e *C. martinii* já apresentaram mortalidade máxima desde a concentração de 50 μm/cm<sup>2</sup>, enquanto os OE de *C. winterianus* e o geraniol apresentaram tal resultado a partir de 100 μm/cm<sup>2</sup> (tabela 4).

Na avaliação após 48 horas de desafio, os OEs e o geraniol não apresentaram variações significativas nos percentuais de mortalidade, mantendo resultados de acordo com as concentrações já evidenciadas com 24 horas de exposição (tabela 4).

**Tabela 5.** Percentual de mortalidade de pupas da pulga *Ctenocephalides felis felis* expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e Geraniol durante o teste preliminar, no tempo de 15 dias de desafio.

<b>μg/mL</b>	<b>μg/cm<sup>2</sup></b>	<b>Mortalidade (%)</b>				
		<b>OECN</b>	<b>OECW</b>	<b>OECF</b>	<b>OECM</b>	<b>Geraniol</b>
		<b>15d</b>	<b>15d</b>	<b>15d</b>	<b>15d</b>	<b>15d</b>
<b>Controle Negativo</b>		5,0	0	10,0	0	15,0
<b>Placebo</b>		0	10,0	15,0	0	0
<b>78,1</b>	<b>1,6</b>	5,0	5,0	5,0	0	0
<b>156,25</b>	<b>3,12</b>	0	5,0	15,0	0	0
<b>312,5</b>	<b>6,25</b>	0	10,0	15,0	0	10,0
<b>625</b>	<b>12,5</b>	0	0	10,0	0	0
<b>1250</b>	<b>25</b>	0	10,0	30,0	0	0
<b>2500</b>	<b>50</b>	5,0	15,0	45,0	35,0	15,0
<b>5000</b>	<b>100</b>	5,0	5,0	60,0	70,0	5,0
<b>10000</b>	<b>200</b>	10,0	75,0	75,0	100,0	75,0
<b>20000</b>	<b>400</b>	85,0	100,0	95,0	100,0	100,0
<b>40000</b>	<b>800</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Controle Positivo</b>		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Legenda: d = dias; OECN = Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*; OECW = Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*; OECF = Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*; OECM = Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

O OE de *C. martinii* foi o único capaz de demonstrar 100% de eficácia pupicida a partir da concentração de 200 μm/cm<sup>2</sup>, enquanto o OE de *C. winterianus* e o geraniol começaram a apresentar tal resultado apenas na concentração de 400 μm/cm<sup>2</sup>. Os OEs de *C. nardus* e *C. flexuosus* demandaram mais tempo para alcançarem 100% de mortalidade, apresentando tal percentual apenas na maior concentração avaliada (800 μm/cm<sup>2</sup>) (tabela 5).

**Tabela 6.** Percentual de mortalidade de adultos da pulga *Ctenocephalides felis felis* expostas a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e Geraniol durante o teste preliminar, durante 24 e 48 horas de desafio.

<b>µg/mL</b>	<b>µg/cm<sup>2</sup></b>	<b>Mortalidade (%)</b>									
		<b>OECN</b>		<b>OECW</b>		<b>OECF</b>		<b>OECM</b>		<b>Geraniol</b>	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<b>Controle Negativo</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Placebo</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>78,1</b>	<b>1,6</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	5,0	5,0
<b>156,25</b>	<b>3,12</b>	0	15,0	0	0	0	0	0	0	0	15,0
<b>312,5</b>	<b>6,25</b>	0	15,0	0	0	0	0	0	0	10,0	25,0
<b>625</b>	<b>12,5</b>	0	20,0	0	0	0	0	0	0	0	5,0
<b>1250</b>	<b>25</b>	0	15,0	0	0	0	0	0	0	10,0	75,0
<b>2500</b>	<b>50</b>	5,0	40,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	50,0	50,0
<b>5000</b>	<b>100</b>	20,0	60,0	5,0	5,0	10,0	10,0	10,0	20,0	70,0	85,0
<b>10000</b>	<b>200</b>	65,0	85,0	10,0	20,0	20,0	25,0	85,0	85,0	75,0	95,0
<b>20000</b>	<b>400</b>	85,0	100,0	40,0	45,0	40,0	50,0	95,0	95,0	100,0	100,0
<b>40000</b>	<b>800</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Controle Positivo</b>		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Legenda: H = Horas; OECN = Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*; OECW = Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*; OECF = Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*; OECM = Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

A partir desses dados, podemos observar que com 24 horas após o desafio todos os 4 OEs avaliados alcançaram 100% de mortalidade frente a adultos de *C. felis felis* somente na maior concentração utilizada, que corresponde a 800 µg/cm<sup>2</sup>, com exceção do geraniol, que começou a demonstrar mortalidade de 100% a partir da concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>. O OE de *C. nardus* apresentou mortalidade de 65% na concentração de 200 µm/cm<sup>2</sup> e 85% em 400 µm/cm<sup>2</sup>. Já o óleo de *C. winterianus* obteve mortalidade de 40% na concentração de 400 µm/cm<sup>2</sup> e resultados insatisfatórios nas menores concentrações. Na avaliação do óleo de *C. flexuosus* foi observado mortalidade de 20% na concentração de 200 µm/cm<sup>2</sup> e 40% na concentração de 400 µm/cm<sup>2</sup>. O óleo de *C. martinii* alcançou mortalidade de 85% na concentração de 200 µm/cm<sup>2</sup> e de 95% em 400 µm/cm<sup>2</sup>. Por fim, o geraniol atingiu taxas de 50, 70 e 75%, nas concentrações de 50, 100 e 200 µm/cm<sup>2</sup>, respectivamente (tabela 6).

Na avaliação após 48 horas de desafio, foi observado que o OE de *C. nardus* e o geraniol foram os únicos capazes de alcançarem 100% de mortalidade na segunda maior concentração avaliada (400 µm/cm<sup>2</sup>), porém, o geraniol já havia demonstrado eficácia máxima nas primeiras 24 horas de exposição, enquanto o *C. nardus* demandou mais tempo, apresentando tal resultado somente com 48 horas. Os demais OEs não apresentaram variações significativas nos

percentuais de mortalidade, mantendo taxas proporcionais às evidenciadas com 24 horas de exposição (tabela 6).

Nesta primeira fase, destaca-se o geraniol, que demonstrou resultados acima de 50% de mortalidade a partir da concentração de 50  $\mu\text{m}/\text{cm}^2$ , em 24 e 48 horas de exposição, enquanto os demais óleos nesta mesma concentração demostraram atividade significativamente inferior (tabela 6).

A partir do desempenho dos OEs e do geraniol neste teste preliminar, foi realizado um ajuste de concentrações para cada estágio do ciclo evolutivo de *C. felis felis*, com o intuito de escolher a faixa mais adequada para a realização dos ensaios definitivos, onde o percentual de mortalidade fosse linear e crescente, conforme demonstrado a seguir.

#### **4.3 Atividade do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* frente a diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis***

Após a realização dos testes definitivos, foi possível observar que o OE de *C. nardus* alcançou 100% de eficácia nas maiores concentrações testadas de todos os estágios do ciclo biológico, que correspondem a 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para ovo e larva, 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para pupa e 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para adultos, como também na inibição do ciclo biológico (100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). No caso das larvas e adultos de *C. felis felis*, a eficácia máxima alcançada foi evidenciada já nas primeiras 24 horas de desafio (tabela 7).

Na análise das fases imaturas de *C. felis felis*, podemos concluir que os estágios de ovo e larva apresentaram percentuais de mortalidade superiores a 90% na segunda maior concentração da solução (100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), enquanto a fase de pupa atingiu apenas 80% na segunda maior concentração avaliada (300  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), mesmo esta sendo relativamente maior quando comparada aos demais estágios. Percentuais acima de 50% de mortalidade foram observados nas concentrações de 50; 60 e 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para os estágios de ovo, larva e pupa, respectivamente (tabela 7).

Em relação aos adultos, percentuais superiores a 40% e 80% de mortalidade foram alcançados nas concentrações de 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e 600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente, em 24 e 48 horas de desafio. Comparando os tempos avaliados, apresentou uma diferença discreta de mortalidade nas concentrações de 100, 300 e 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabela 7).

Já na inibição do ciclo biológico, percentuais superiores a 40% foram encontrados na menor concentração avaliada ( $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e resultados acima de 90% foram observados na concentração de  $50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabela 7).

**Tabela 7.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Ovo		Larva			$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Pupa		Adulto			$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	ICB 30 d
	72 h	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24 h	48 h	15 d		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24 h	48 h	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Cont. Neg.		
Cont. Neg.	5,0	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	0	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	3,3		
Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0	Placebo	1,7	3,3	Placebo	0		
20	16,4	50	31,7	38,3	100	25,4	100	2,0	3,0	10	43,8		
30	40,0	60	55,0	60,0	150	45,4	300	23,3	28,3	20	78,9		
50	61,8	80	68,3	75,0	200	70,9	400	41,7	46,7	30	85,9		
100	92,7	100	93,3	95,0	300	80,0	600	86,7	86,7	50	92,9		
200	100,0	200	100,0	100,0	400	100,0	800	100,0	100,0	100	100,0		
Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0		

Legenda: ICB = Inibição do Ciclo Biológico; h = Horas; d = dias; Cont. Neg. = Controle Negativo; Cont. Pos. = controle positivo.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, foi realizada a análise de Probit para estimar as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de todos os estágios (adultos e imaturos) de *C. felis felis* e da ICB, expostos ao OE de *C. nardus*. Os resultados encontram-se listados na tabela 8.

**Tabela 8.** Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Estágio	IC (95%)		Slope	Vr	$R^2$	$\chi^2$	p	
	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )						
Ovo	72 d	35,1 (27,7 – 43,2)	102,0 (98,2 – 248,2)	2,8	0,36	0,932	2,386	0,335
Larva	24 h	59,4 (51,9 – 65,5)	98,84 (86,1 -129,2)	5,8	1,77	0,884	3,653	0,545
	48 h	55,6 (47,3 – 61,6)	92,95 (81,3 – 121,4)	5,7	1,74	0,865	2,347	0,328
Pupa	15 d	167,2 (134,4 – 198,2)	338,3 (301,0 – 359,2)	2,1	0,36	0,913	5,255	0,655
	24 h	466,2 (445,7 – 588,6)	759,4 (686,6 – 822,7)	2,2	1,06	0,792	1,565	0,185
	48 h	450,5 (431,9 – 570,3)	728,8 (660,2 – 891,6)	1,9	1,67	0,764	1,276	0,135
ICB	30 d	10,3 (6,0 – 13,7)	33,7 (25,7 – 53,8)	2,5	2,48	0,756	1,726	0,214

Legenda: d = dia; h = horas; ICB = inibição do ciclo biológico; CL<sub>50</sub> = concentração letal 50; CL<sub>90</sub> = concentração letal 90; IC = intervalo de confiança; Vr = variação; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado

Com base nos resultados apresentados, os valores de CL<sub>50</sub> calculados para o OE de *C. nardus* frente aos estágios de *C. felis felis* apresentaram variação de 35,1 a 466,2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  em todos os tempos de desafio, sendo que o estágio de ovo apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub>, enquanto o estágio adulto apresentou o maior valor. Além disso, foi possível observar que na

concentração de 10,30 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 50% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 8).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, podemos observar que o OE de *C. nardus* apresentou a seguinte ordem de potência: inibição do desenvolvimento (CL<sub>50</sub> = 10,3 µg/cm<sup>2</sup>) > ovo (CL<sub>50</sub> = 35,1 µg/cm<sup>2</sup>) > larva (CL<sub>50</sub> = 59,4 µg/cm<sup>2</sup>) > pupa (CL<sub>50</sub> = 167,2 µg/cm<sup>2</sup>) > adulto (CL<sub>50</sub> = 466,2 µg/cm<sup>2</sup>). Quando calculado a potência relativa, percebe-se que o OE avaliado foi 13,28 vezes mais potente para ovo, 7,84 vezes mais potente para larva e 2,78 vezes mais potente para pupa quando comparado ao estágio adulto. Esses resultados demonstram que os adultos são menos sensíveis à ação do OE *C. nardus* do que os demais estágios evolutivos, ou seja, necessitam de uma maior concentração para que seja capaz de levar à morte de 50% da população, corroborando com o que foi descrito por Blagburn e Dryden (2009), em que a pulga adulta é a fase do ciclo evolutivo menos suscetíveis a ectoparasiticidas.

Em relação aos adultos e larvas, quando comparada a potência relativa entre os tempos de desafio de 24 e 48 horas, é possível perceber que a razão foi inferior a 2, isso significa que um tempo maior de exposição ao OE não difere na mortalidade dos exemplares.

Na determinação da CL<sub>90</sub>, a faixa de concentração para os estágios do ciclo evolutivo variou entre 92,95 a 759,4 µg/cm<sup>2</sup> em todos os tempos de exposição, porém, nesse caso, o estágio de larva passou a apresentar os menores valores de CL<sub>90</sub>, enquanto o estágio adulto apresentou o mesmo perfil anterior, compreendendo o maior valor obtido. Também foi possível observar que na concentração de 33,67 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 90% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 8).

A partir dos resultados obtidos, podemos observar que o OE de *C. nardus* apresenta eficácia inseticida satisfatória frente a ovos, larvas, pupas e adultos de *C. felis felis*. A atividade inseticida do OE *C. nardus* frente a larvas e adultos de outro inseto hematófago também já foi publicado por Borges *et al.* (2021) e Zulfikar e Sitepu (2019), respectivamente, visando o combate do mosquito *A. aegypti*. A eficácia adulticida desse OE frente a pragas agrícolas também já foi publicada por Caballero-Gallardo *et al.* (2021), Doumbia *et al.* (2014) e Telaumbanua *et al.* (2021).

Segundo o experimento publicado por Santos *et al.* (2020), o OE de *C. nardus* apresentou 100% de eficácia para adultos de *C. felis felis* apenas na maior concentração avaliada, correspondente a 800 µg/cm<sup>2</sup> (CL<sub>50</sub> = 597,05 µg/cm<sup>2</sup>), mas demonstrou uma maior sensibilidade frente aos estágios imaturos dessa espécie (CL<sub>50</sub> = 11,98 e 7,32 µg/cm<sup>2</sup> para ovo e larva, respectivamente), corroborando com os resultados observados no presente estudo.

Porém, conseguimos obter 100% de eficácia ovicida e larvicida em menores concentrações do produto ( $200\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) quando comparado aos resultados publicados por tais autores, que só alcançaram essa percentagem na concentração de  $400\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Quando comparado os valores de  $\text{CL}_{50}$  obtidos com o presente estudo, percebe-se que os autores evidenciaram um valor superior para o estágio adulto, no entanto, alcançaram valores inferiores para os estágios de ovo e larva.

#### **4.4 Atividade do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* frente a diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis***

Na análise dos dados obtidos, foi possível observar que o OE de *C. winterianus* alcançou eficácia máxima nas maiores concentrações testadas frente aos estágios de larva, pupa e adulto de *C. felis felis*, que correspondem a 55; 320 e  $800\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente, porém, na fase de ovo, não foi possível alcançar 100% de mortalidade mesmo na maior concentração avaliada ( $35\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Além disso, foi possível observar que a partir da concentração de  $40\mu\text{g}/\text{cm}^2$  consegue-se inibir em 100% o desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 9).

Nas avaliações de atividade ovicida e larvicida foram observadas uma pequena taxa de mortalidade no grupo placebo. Entretanto, essa mortalidade já é esperada dentro do ciclo evolutivo de *C. felis felis*, uma vez que se espera uma eclodibilidade de 70 – 100% em uma população de pulgas (RUST, 2005; RUST; DRYDEN, 1997).

No ensaio ovicida, vale ressaltar que, apesar de ter apresentado uma taxa acima de 90% somente na maior concentração testada ( $35\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), essa fase foi exposta a concentrações relativamente mais baixas do OE quando comparado às outras fases do ciclo evolutivo. Os demais estágios, nesta mesma faixa de concentração, possuíram percentuais mais baixos ou nenhuma atividade.

Em relação às outras fases imaturas de *C. felis felis*, podemos observar que as larvas apresentaram taxas superiores a 40% na concentração de  $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e mortalidade superior a 98% a partir da concentração de  $50\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , para ambos os tempos de desafio. Enquanto a fase de pupa atingiu percentual e 39,6% e 92,5% somente nas concentrações de  $80\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e  $240\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente (tabela 9).

Na mortalidade dos adultos, percentuais superiores a 40% e 90 % foram alcançados nas concentrações de  $400\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e  $700\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente, em 24 e 48 horas de desafio. Já na inibição do desenvolvimento, resultados superiores a 66% foram encontrados na

concentração de 15 µg/cm<sup>2</sup>, e taxas acima de 88% foram observados na segunda maior concentração avaliada (25 µg/cm<sup>2</sup>) (tabela 9).

**Tabela 9.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

µg/cm <sup>2</sup>	Ovo		Larva			Pupa		Adulto			ICB
	72 h	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	48 h	µg/cm <sup>2</sup>	15 d	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	48 h	µg/cm <sup>2</sup>	30 d
Cont. Neg.	3,3	Cont. Neg.				Cont. Neg.				Cont. Neg.	
Placebo	6,7	Placebo	1,67	1,67	Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0
3	9,8	25	8,3	10,0	40	26,4	300,0	10,0	10,0	3	9,4
15	30,0	30	40,0	48,3	80	39,6	400,0	40,0	43,3	12	37,7
25	77,4	40	71,7	71,7	160	77,4	600,0	75,0	78,3	15	66,0
30	88,3	50	98,3	98,3	240	92,5	700,0	90,0	93,3	25	88,7
15	98,4	55	100,0	100,0	320	100,0	800,0	100,0	100,0	40	100,0
Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = horas; d = dias; Cont. Neg. = controle negativo; Cont. Pos. = controle positivo.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, foi realizada a análise de Probit para estimar as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de todos os estágios de *C. felis felis* e na inibição do desenvolvimento, expostos ao óleo essencial de *C. winterianus*. Os resultados encontram-se listados na tabela 10.

**Tabela 10.** Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Estágio	IC (95%)		Slope	Vr	R <sup>2</sup>	$\chi^2$	p	
	CL <sub>50</sub> (µg/cm <sup>2</sup> )	CL <sub>90</sub> (µg/cm <sup>2</sup> )						
Ovo	72 h	16,0 (12,9 – 17,2)	39,5 (32,5 – 52,3)	3,0	1,40	0,981	29,766	0,999
	24 h	32,6 (31,1 – 33,9)	42,5 (40,3 – 45,6)	11,13	1,89	0,923	10,245	0,885
Larva	48 h	31,9 (30,4 – 33,4)	42,4 (40,1 – 45,6)	10,5	2,04	0,930	13,043	0,957
	15 d	85,3 (69,5 – 100,5)	236,1 (194,6 – 333,3)	2,8	0,92	0,964	12,072	0,966
Pupa	24 h	441,9 (413,1 – 470,6)	698,9 (638,0 – 794,7)	6,4	1,95	0,967	10,591	0,898
	48 h	440,0 (413,9 – 466,2)	659,0 (607,9 – 736,3)	7,3	1,36	0,960	4,401	0,377
ICB	30 d	12,0 (8,8 – 13,4)	28,4 (22,7 – 40,4)	3,2	1,67	0,945	14,019	0,992

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = Horas; CL<sub>50</sub> = concentração letal 50; CL<sub>90</sub> = concentração letal 90; IC = intervalo de confiança; Vr = variação; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado

Com base nos resultados apresentados, os valores de CL<sub>50</sub> calculados para o OE de *C. winterianus* frente aos estágios de *C. felis felis* apresentaram variação de 16,0 a 441,9 µg/cm<sup>2</sup> em todos os tempos de desafio, sendo que o estágio de ovo apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub>, enquanto o estágio adulto apresentou o maior valor. Além disso, foi possível observar que na concentração de 12,0 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 50% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 10).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, podemos observar que o OE de *C. winterianus* apresentou a seguinte ordem de potência: inibição do desenvolvimento (CL<sub>50</sub> = 12,0 µg/cm<sup>2</sup>) > ovo (CL<sub>50</sub> = 16,0 µg/cm<sup>2</sup>) > larva (CL<sub>50</sub> = 32,6µg/cm<sup>2</sup>) > pupa (CL<sub>50</sub> = 85,4µg/cm<sup>2</sup>) e adulto (CL<sub>50</sub> = 441,9µg/cm<sup>2</sup>). Quando calculado a potência relativa, percebe-se que o OE avaliado foi 27,61 vezes mais potente para ovo, 13,55 vezes mais potente para larva e 5,17 vezes mais potente para pupa quando comparado ao estágio adulto. Esses resultados demonstram que os adultos são consideravelmente menos sensíveis à ação do OE *C. winterianus* do que os demais estágios evolutivos avaliados, pois precisam de uma maior concentração do produto para alcançarem 50% de mortalidade em uma população. Tais resultados também corroboram com o trabalho que foi descrito por Blagburn e Dryden (2009), no qual relatam que pulgas adultas são as fases do ciclo evolutivo menos suscetíveis a ectoparasiticidas.

Considerando os valores de CL<sub>50</sub> demonstrados nos estágios de larva e adultos após 24 e 48 horas de exposição, é possível perceber que também não há diferença significativa na atividade do OE nos dois tempos avaliados, ou seja, mesmo após 48 horas de exposição não há um aumento considerável da eficácia do óleo essencial. No caso das larvas e dos adultos, a razão apresentada no cálculo da CL<sub>50</sub> foi de 1,02 e 1,00, respectivamente.

Na determinação da CL<sub>90</sub>, a faixa de concentração para os estágios do ciclo evolutivo variou entre 39,5 a 698,9 µg/cm<sup>2</sup> em todos os tempos de exposição. Nesse caso, o estágio de ovo e adultos apresentaram o mesmo perfil demonstrado na determinação da CL<sub>50</sub>, compreendendo o menor e o maior valor obtido, respectivamente. Também foi possível observar que na concentração de 28,4 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 90% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 10).

A atividade ovicida e larvicida deste OE já foi descrita no controle da mosca *Cochliomyia hominivorax* (BRICARELLO *et al.*, 2021) e do mosquito *A. aegypti* (MANH *et al.*, 2020), assim como a sua eficácia frente a pragas de grãos armazenados também já foi relatada, tais como *Acanthoscelides obtectus* (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2019), *Spodoptera frugiperda* (SILVA *et al.*, 2018), *Tetranychus urticae* (VICENTINI *et al.*, 2015) e *Callosobruchus maculatus* (GUSMÃO *et al.*, 2013). Além da sua capacidade leishmanicida e tripanocida, publicada recentemente por Pereira *et al.* (2022).

#### **4.5 Atividade do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis***

Com base nos dados tabulados, foi possível observar que o OE de *C. flexuosus* alcançou 100% de eficácia nas maiores concentrações testadas de todos os estágios da pulga *C. felis felis*, que correspondem a 60; 45, 440 e 800 µg/cm<sup>2</sup> para ovo, larva, pupa e adultos, respectivamente. O desenvolvimento de *C. felis felis* foi inibido em 100% na concentração de 40 µg/cm<sup>2</sup> (tabela 11).

Na análise das fases imaturas e dos adultos, todos os estágios alcançaram taxas superiores a 90% nas concentrações de 50; 40, 400 e 600 µg/cm<sup>2</sup> para ovos, larvas, pupas e adultos, respectivamente. Já na ICB, um percentual de 88,7% foi encontrado na concentração de 25 µg/cm<sup>2</sup> (tabela 11).

**Tabela 11.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

µg/cm <sup>2</sup>	Ovo		Larva			Pupa		Adulto			ICB
	72 h	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	48 h	µg/cm <sup>2</sup>	15 d	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	48 h	µg/cm <sup>2</sup>	30 d
Cont. Neg.	3,3	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.		Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	0
Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0
10	20,4	20	7,1	7,1	40	18,9	150	11,67	11,67	3	9,4
25	46,3	25	63,9	71,7	80	32,1	300	35,0	40,91	12	37,7
40	61,1	30	86,7	86,7	160	75,5	400	60,0	75,0	15	66,0
50	90,7	40	98,3	98,3	400	96,2	600	90,0	95,0	25	88,7
60	100,0	45	100,0	100,0	440	100,0	800	100,0	100,0	40	100
Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = horas; d = dias; Cont. Neg. = controle negativo; Cont. Pos. = controle positivo.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, foi realizada a análise de Probit para estimar as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de todos os estágios de *C. felis felis* e na inibição do desenvolvimento, expostos ao óleo essencial de *C. flexuosus*. Os resultados encontram-se listados na tabela 12.

**Tabela 12.** Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Estágio		IC (95%)		Slope	Vr	$R^2$	$\chi^2$	p
		CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )					
<b>Ovo</b>	72 h	20,7 (16,6 – 24,4)	48,6 (46,8 – 86,7)	2,7	0,92	0,994	22,021	0,999
	24 h	25,7 (24,2 – 27,2)	33,2 (31,2 – 36,4)	11,5	1,42	0,923	4,029	0,454
<b>Larva</b>	48 h	23,3 (22,8 – 26,7)	34,3 (30,3 – 35,4)	11,9	1,39	0,917	7,028	0,781
	15d	88,7 (60,2 – 98,4)	238,0 (181,7 – 366,6)	2,7	0,67	0,780	5,745	0,941
<b>Pupa</b>	24 h	311,3 (282,1 – 341,3)	647,9 (573,2 – 758,0)	4,0	0,85	0,983	9,764	0,797
	48 h	310,6 (274,5 – 342,9)	566,9 (502,3 – 675,4)	4,9	2,04	0,977	13,946	0,984
<b>Adulto</b>								
<b>ICB</b>	30d	13,8 (8,1 – 15,8)	45,3 (27,6 – 55,0)	2,7	0,54	0,956	5,509	0,761

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = Horas; CL<sub>50</sub> = concentração letal 50; CL<sub>90</sub> = concentração letal 90; IC = intervalo de confiança; Vr = variação; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado.

Na análise estatística, percebe-se que os valores de CL<sub>50</sub> calculados para o óleo essencial de *C. flexuosus* frente aos estágios de *C. felis felis* apresentaram variação de 20,67 a 311,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  em todos os tempos de desafio, sendo o menor valor determinado para o estágio de ovo, enquanto o maior valor foi observado no estágio adulto, após 24 horas de exposição. Também foi possível observar que na concentração de 13,81  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  consegue-se interromper 50% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 12).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, podemos observar que o OE de *C. flexuosus* apresentou a seguinte ordem de potência: inibição do desenvolvimento (CL<sub>50</sub> = 13,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > ovo (CL<sub>50</sub> = 20,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > larva (CL<sub>50</sub> = 25,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > pupa (CL<sub>50</sub> = 88,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e adulto (CL<sub>50</sub> = 311,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Quando calculado a potência relativa, percebe-se que o OE avaliado foi 15,03 vezes mais potente para ovo, 12,11 vezes mais potente para larva e 3,50 vezes mais potente para pupa quando comparado ao estágio adulto. Esses resultados demonstram a maior susceptibilidade dos ovos à ação do OE de *C. flexuosus*, além disso, também corroboraram com o que foi publicado por Blagburn e Dryden (2009), uma vez que os adultos demonstraram menor sensibilidade à atividade do óleo avaliado.

Considerando os valores de CL<sub>50</sub> demonstrados, quando a potência relativa entre o tempo de exposição de 24 e 48 horas para larvas e adultos é avaliada, é possível perceber que a razão estimada é de 1,10 e 1,0, respectivamente. Tais resultados demonstram que o tempo de exposição é indiferente para eliminação das larvas e pulgas adultas, pois não há um aumento significativo da eficácia do OE após 48 horas de exposição quando comparado ao desafio de 24 horas.

Na determinação da CL<sub>90</sub>, a faixa de concentração para os estágios do ciclo evolutivo variou entre 33,2 a 647,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  em todos os tempos de exposição. Nesse caso, o estágio de larva apresentou o menor valor obtido, após 24 horas de desafio, já o estágio adulto permaneceu

com o mesmo perfil demonstrado na determinação da CL<sub>50</sub>, compreendendo o maior valor obtido após 24 horas de exposição. A partir dos resultados, também foi possível observar que na concentração de 45,3 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 90% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 12).

O impacto do OE de *C. flexuosus* frente aos mosquitos *A. aegypti* e *Anopheles* spp foi publicado recentemente por Castillo-Morales *et al.* (2021) frente a ovos e larvas, e por Bhatt e Kale (2019) frente a ovos e adultos, respectivamente. O seu potencial biopesticida também já foi relatado contra o caruncho-do-feijão *Callosobruchus maculatus* (DOS SANTOS *et al.*, 2022), gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (MOTA FILHO *et al.*, 2022) e lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

#### **4.6 Atividade do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* frente a diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis***

O OE de *C. martinii* alcançou 100% de eficácia nas maiores concentrações testadas de todos os estágios do ciclo biológico de *C. felis felis*, que correspondem a 60 µg/cm<sup>2</sup> para ovo e larva, 600 µg/cm<sup>2</sup> para pupa e 800µg/cm<sup>2</sup> para adultos, como também na inibição do desenvolvimento (40 µg/cm<sup>2</sup>) (tabela 13).

Na análise das fases imaturas, podemos observar que os estágios de ovo, larva e pupa alcançaram taxas superiores a 88%, 73% e 90%, respectivamente, na segunda maior concentração avaliada, que correspondem a 50; 40 e 400 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Porém, vale ressaltar que o estágio de pupa foi desafiado com uma concentração relativamente superior aos demais estágios (tabela 13).

Em relação aos adultos, percentuais superiores a 51% e 93% de mortalidade foram alcançados nas concentrações de 150 e 400 µg/cm<sup>2</sup>, para ambos os tempos de desafio (tabela 13).

Já na inibição do desenvolvimento, percentuais superiores a 62% foram encontrados na terceira maior concentração avaliada (20 µg/cm<sup>2</sup>) e resultados acima de 85% foram observados na concentração de 30 µg/cm<sup>2</sup> (tabela 13).

**Tabela 13.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adulto e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Ovo		Larva			Pupa		Adulto			$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	ICB 30 d
	72 h	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24 h	48 h	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	15 d	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24 h	48 h	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$		
Cont. Neg.	6,7	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	3,3	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	6,7	
Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0	
10	6,7	2	0	3,3	150	25,0	50	25,0	25,0	2	10,7	
20	43,3	10	16,7	20,0	200	44,2	150	51,7	55,0	10	39,3	
30	71,7	30	51,7	56,7	300	76,9	200	85,0	85,0	20	62,5	
50	88,3	40	73,3	76,7	400	90,4	400	93,3	96,7	30	85,7	
60	100,0	60	100,0	100,0	600	100,0	800	100,0	100,0	40	100,0	
Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = horas; d = dias; Cont. Neg. = controle negativo; Cont. Pos. = controle positivo.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, foi realizada a análise de Probit para estimar as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de todos os estágios de *C. felis felis* e na inibição do desenvolvimento, expostos ao óleo essencial de *C. martinii*. Os resultados encontram-se listados na tabela 14.

**Tabela 14.** Concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Estágio	IC (95%)		Slope	Vr	$R^2$	$\chi^2$	p
	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )					
Ovo	72 h	22,0 (18,7 – 25,3)	4,3	0,72	0,968	4,472	0,654
	24 h	19,4 (11,9 – 25,5)					
Larva	48 h	15,6 (11,3 – 31,6)	5,7	1,77	0,884	3,653	0,545
	15 d	188,1 (157,4 – 214,2)					
Pupa	24 h	103,2 (76,5 – 129,4)	4,5	2,27	0,951	1,247	0,130
	48 h	99,9 (74,5 – 125,0)					
Adulto	48 h	291,5 (224,7 – 436,7)	2,7	0,38	0,879	10,153	0,962
	30 d	10,9 (7,1 – 12,8)					
ICB		36,7 (27,1 – 58,4)	2,3	0,44	0,992	36,571	1,000

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = Horas; CL<sub>50</sub> = concentração letal 50; CL<sub>90</sub> = concentração letal 90; IC = intervalo de confiança; Vr = variação; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado

Com base nos resultados apresentados, os valores de CL<sub>50</sub> calculados para o óleo essencial de *C. martinii* frente aos estágios de *C. felis felis* apresentaram variação de 15,6 a 188,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  em todos os tempos de desafio, sendo que o estágio de larva apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub>, enquanto o estágio de pupa apresentou o maior valor. Além disso, foi possível observar que na concentração de 10,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  consegue-se interromper 50% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 14).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, podemos observar que o OE de *C. martinii* apresentou a seguinte ordem de potência: inibição do desenvolvimento (CL<sub>50</sub> =

$10,9\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > larva ( $\text{CL}_{50} = 19,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > ovo ( $\text{CL}_{50} = 22,0\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > adulto ( $\text{CL}_{50} = 103,2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e pupa ( $\text{CL}_{50} = 188,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Com a determinação da potência relativa, percebe-se que o OE avaliado foi 9,69 vezes mais potente para larvas e 8,55 vezes mais potente para ovos, quando comparado ao estágio de pupa, porém, não demonstrou diferença significativa de potência em relação aos adultos, uma vez que a razão obtida foi de 1,82.

Esses resultados demonstram a susceptibilidade do estágio de larva à ação do OE avaliado, enquanto as pupas apresentam-se mais resistentes à atividade do óleo do que os demais estágios evolutivos, necessitando de uma maior concentração da solução para ser capaz de alcançar 50% de mortalidade em uma população. Este fato pode estar relacionado à presença do casulo pupal, que exerce proteção à pupa frente aos fatores externos, categorizando-as como o estágio de maior resistência encontrado no ambiente (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Considerando os valores de  $\text{CL}_{50}$  demonstrados nos estágios de larva e adultos, é possível perceber que não há diferença significativa na atividade do OE nos dois tempos avaliados, ou seja, a exposição por 24 horas é o suficiente para eliminar 50% de uma população. A razão demonstrada no cálculo da  $\text{CL}_{50}$  das larvas e adultos foi de 1,24 e 1,03, respectivamente.

Na determinação da  $\text{CL}_{90}$ , a faixa de concentração para os estágios do ciclo evolutivo variou entre 44,1 a  $362,97 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  em todos os tempos de exposição. O estágio de ovo apresentou um menor valor de  $\text{CL}_{90}$ , enquanto a pupa apresentou o mesmo perfil demonstrado na determinação da  $\text{CL}_{50}$ , compreendendo o maior valor obtido. Também foi possível observar que na concentração de  $36,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  consegue-se interromper 90% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 14).

Não existem trabalhos publicados que demonstrem a ação do OE *C. martinii* frente a pulgas. Porém, sua eficácia larvicida frente ao mosquito *A. aegypti* já foi relatada por Tennyson *et al.* (2013). Kumar, Srivastava e Dubey (2007) também relataram o efeito promissor do OE *C. martinii* como pesticida botânico contra infestações dos besouros *Callosobruchus chinensis* e *Tribolium castaneum*, afetando a oviposição e o desenvolvimento de adultos. Resultados satisfatórios frente a pragas agrícolas também foram relatados por Devi *et al.* (2020) frente a *Tribolium castaneum* e por Hernández-lambraño, Caballero-Gallardo e Olivero-Verbel (2014) frente a *Euprosterna elaeasa* e *Acharia fusca*.

#### 4.7 Atividade do Geraniol frente a diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*

Após a realização dos testes *in vitro*, foi possível observar que o constituinte geraniol alcançou 100% de eficácia nas maiores concentrações testadas de todos os estágios do ciclo biológico, que correspondem a 50 µg/cm<sup>2</sup> para ovo e larva, 200 µg/cm<sup>2</sup> para pupa e 600 µg/cm<sup>2</sup> para adultos, como também na inibição do ciclo biológico (20 µg/cm<sup>2</sup>). No caso das larvas e adultos de *C. felis felis*, a eficácia máxima foi evidenciada já nas primeiras 24 horas de desafio (tabela 15).

Na análise das fases de ovo e larva, percentuais de mortalidade superiores a 76% e 83% foram demonstrados na segunda maior concentração da solução (30 e 40 µg/cm<sup>2</sup>), respectivamente, enquanto a fase de pupa atingiu mortalidade de 87,5% na segunda maior concentração avaliada (150 µg/cm<sup>2</sup>), mesmo esta sendo relativamente maior quando comparada aos demais estágios. Percentuais acima de 50% de mortalidade foram observados nas concentrações de 20; 30 e 50 µg/cm<sup>2</sup> para os estágios de ovo, larva e pupa, respectivamente, porém, na fase larval, esse percentual só foi evidenciado após 48 horas de desafio (tabela 15).

Em relação aos adultos, percentuais superiores a 56% e 91% de mortalidade foram alcançados nas concentrações de 100 µg/cm<sup>2</sup> e 300 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente, em 24 e 48 horas de exposição ao produto (tabela 15).

Já na inibição do ciclo biológico, percentuais superiores a 62,5% foram encontrados na concentração de 5 µg/cm<sup>2</sup> e resultados acima de 89,3% foram observados na concentração de 10 µg/cm<sup>2</sup> (tabela 15).

**Tabela 15.** Percentual de mortalidade do geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

µg/cm <sup>2</sup>	Ovo		Larva		Pupa		Adulto		ICB 30 d
	72 h	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	48 h	µg/cm <sup>2</sup>	15 d	µg/cm <sup>2</sup>	24 h	
Cont. Neg.	3,3	Cont. Neg.	0	0	Cont. Neg.	11,0	Cont. Neg.	0	0
Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	0	Placebo	0	Placebo
2	10,0	10	0	3,3	25	26,8	50	30,0	33,3
10	20,0	20	15,0	26,7	50	50,0	100	56,7	58,3
20	51,7	30	38,3	50,0	100	78,6	150	73,3	75,0
30	76,7	40	83,3	83,3	150	87,5	300	91,7	96,7
50	100,0	50	100,0	100,0	200	100,0	600	100,0	100,0
Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.	100,0	Cont. Pos.

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = horas; d = dias; Cont. Neg. = controle negativo; Cont. Pos. = controle positivo.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, foi realizada a análise de Probit para estimar as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de todos os estágios de *C. felis felis* e na inibição do desenvolvimento, expostos ao constituinte geraniol. Os resultados encontram-se listados na tabela 16.

**Tabela 16.** Concentração letal 50 e 90 do geraniol frente aos estágios de ovo, larva, pupa, adultos e inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Estágio	IC (95%)		Slope	Vr	R <sup>2</sup>	$\chi^2$	p	
	CL <sub>50</sub> (μg/cm <sup>2</sup> )	CL <sub>90</sub> (μg/cm <sup>2</sup> )						
<b>Ovo</b>	72 h	14,7 (11,0 – 18,9)	46,3 (39,7 – 51,1)	2,2	0,45	0,986	28,465	1,000
	24 h	29,5 (26,8 – 32,1)	43,3 (39,0 – 50,9)	7,68	0,13	0,958	8,882	0,936
<b>Larva</b>	48 h	29,5 (26,7 – 32,1)	43,3 (39,0 – 50,9)	7,68	0,13	0,984	8,883	0,936
	15 d	47,1 (33,3 – 60,5)	183,79 (132,9 – 198,1)	2,2	0,46	0,969	15,148	0,996
<b>Pupa</b>	24 h	84,6 (68,7 – 102,6)	273,4 (172,4 – 304,4)	2,5	0,39	0,928	88,290	1,000
	48 h	75,7 (61,7 – 91,3)	223,7 (178,0 – 329,0)	2,7	0,27	0,836	2,275	0,190
<b>Adulto</b>	30 d	3,6 (2,8 – 4,6)	11,3 (8,3 – 17,8)	2,6	0,39	0,927	4,500	0,657
<b>ICB</b>								

Legenda: ICB = inibição do ciclo biológico; h = Horas; CL<sub>50</sub> = concentração letal 50; CL<sub>90</sub> = concentração letal 90; IC = intervalo de confiança; Vr = variação; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado.

Com base nos resultados apresentados, os valores de CL<sub>50</sub> calculados para o geraniol frente aos estágios de *C. felis felis* apresentaram variação de 14,7 a 84,6 μg/cm<sup>2</sup> em todos os tempos de desafio, sendo que o estágio de ovo apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub>, enquanto o estágio adulto apresentou o maior valor. Também foi possível observar que na concentração de 3,6 μg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 50% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 16).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, podemos observar que o geraniol apresentou a seguinte ordem de potência: inibição do desenvolvimento (CL<sub>50</sub> = 3,6 μg/cm<sup>2</sup>) > ovo (CL<sub>50</sub> = 14,7 μg/cm<sup>2</sup>) > larva (CL<sub>50</sub> = 29,5 μg/cm<sup>2</sup>) > pupa (CL<sub>50</sub> = 47,1 μg/cm<sup>2</sup>) > adulto (CL<sub>50</sub> = 84,6 μg/cm<sup>2</sup>). Com a determinação da potência relativa, percebe-se que o OE avaliado foi 5,75 vezes mais potente para ovos e 2,86 vezes mais potente para larvas, quando comparado ao estágio adulto. Quando comparada a potência relativa entre o estágio de pupa e adulto, é possível perceber que a razão foi inferior a 2, demonstrando que não foi observado uma diferença significativa de potência entre eles. Esses resultados demonstram a susceptibilidade do estágio de ovo à ação do geraniol, enquanto os adultos apresentam-se mais resistentes à atividade do composto, necessitando de uma maior concentração da solução para ser capaz de alcançar 50% de mortalidade em uma população.

Considerando os valores de CL<sub>50</sub> demonstrados nos estágios de larva e adultos, é possível perceber que não há diferença significativa na atividade do OE nos dois tempos avaliados, ou seja, a exposição por 24 horas é o suficiente para eliminar 50% de uma população.

No caso das larvas, a razão apresentada no cálculo da CL<sub>50</sub> foi de 1,00, já os adultos apresentaram uma razão de 1,11.

Na determinação da CL<sub>90</sub>, a faixa de concentração para os estágios do ciclo evolutivo variou entre 43,3 a 273,4 µg/cm<sup>2</sup> em todos os tempos de exposição. O estágio de larva apresentou um menor valor de CL<sub>90</sub>, enquanto o adulto apresentou o mesmo perfil demonstrado na determinação da CL<sub>50</sub>, compreendendo o maior valor obtido. Também foi possível observar que na concentração de 11,3 µg/cm<sup>2</sup> consegue-se interromper 90% do desenvolvimento de *C. felis felis* (tabela 16).

A atividade do geraniol frente a outros insetos hematófagos também estão disponíveis na literatura. Os autores Tabari *et al.* (2017), após avaliarem a toxicidade do OE de *Pelargonium roseum* e seus constituintes majoritários β-citronelol (35,9%), geraniol (18,5%) e linalol (5,72%) frente ao mosquito *Culex pipiens*, concluíram que o geraniol apresentou efeito larvicida e ovicida satisfatório, resultando em valores de CL<sub>50</sub> de 6,86 e 0,8 µg/mL, respectivamente. A atividade adulticida demonstrou ser dose e efeito dependente, mas apresentou menor ação quando comparado ao OE avaliado ( $P < 0,001$  para 2 µg/L e  $P < 0,01$  para 5 µg/L).

A atividade ovicida promissora do geraniol para o tratamento de escabiose também já foi relatada por Li *et al.* (2021). Segundo os autores, o constituinte geraniol, assim como o carvacrol e eugenol, presentes na composição de diversos OEs, apresentaram atividades ovicidas significativas frente ao ácaro *Sarcoptes scabiei*, obtendo percentagens de CL<sub>50</sub> de 2,0, 0,5, 0,9%, respectivamente.

Por outro lado, resultados insatisfatórios foram relatados por Kumar (2006), onde o geraniol não demonstrou ação tão eficaz quanto o OE de *C. martinii* frente a pragas de produtos alimentícios armazenados, tais como *Callosobruchus chinensis*, *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*.

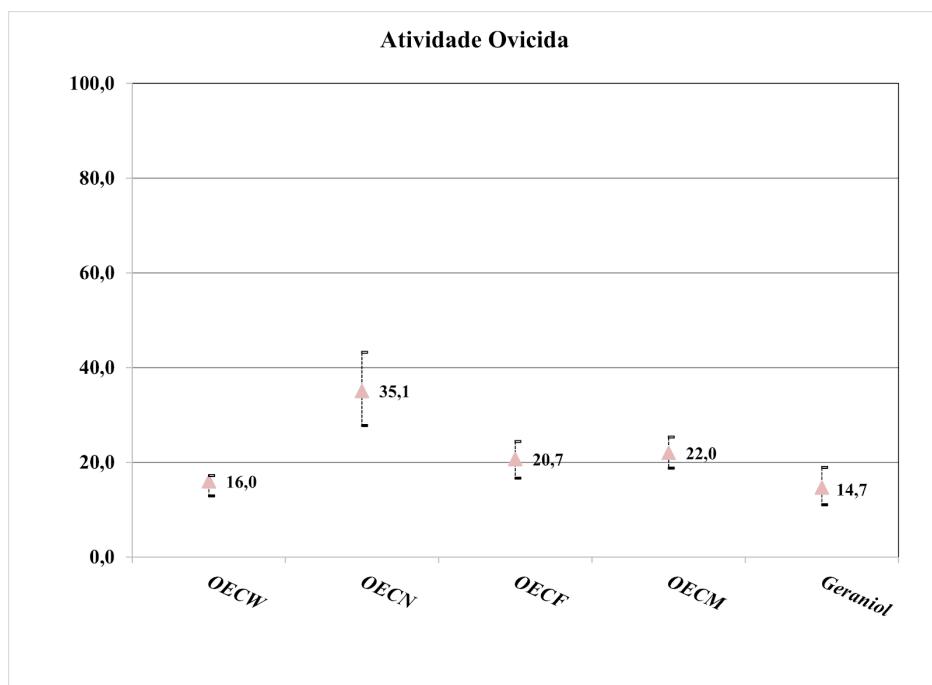
#### **4.8 Comparação da atividade inseticida e na interrupção do ciclo biológico dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon martinii* e do geraniol frente a *Ctenocephalides felis felis***

A análise comparativa dos valores de CL<sub>50</sub> obtidos dos quatro óleos essenciais avaliados e do geraniol frente a pulga *C. felis felis* foi realizada para cada estágio. Para isso, foi utilizado somente o tempo de avaliação de 24 horas para os estágios de larva e adulto, uma vez que não houve um aumento significativo da eficácia após 48 horas de desafio.

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> do estágio de ovo, podemos observar que os OEs avaliados e o geraniol apresentaram a seguinte ordem de potência: geraniol (CL<sub>50</sub> = 14,7 µg/cm<sup>2</sup>) > OECW (CL<sub>50</sub> = 16,0 µg/cm<sup>2</sup>) > OECF (CL<sub>50</sub> = 20,7 µg/cm<sup>2</sup>) > OECM (CL<sub>50</sub> = 22,0 µg/cm<sup>2</sup>) > OECN (CL<sub>50</sub> = 35,1 µg/cm<sup>2</sup>).

A partir do exposto acima, é possível verificar que o constituinte geraniol apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub> quando comparado aos OEs testados e, dentre os óleos utilizados, o OECN apresentou o maior valor obtido. Quando realizado a comparação das potências relativas, percebe-se que o geraniol foi 2,38 vezes mais potente para ovos, enquanto o OECW demonstrou 2,19 vezes mais potente para esse mesmo estágio, quando comparados ao OECN. Não foi observado diferença significativa no valor obtido pelo OECF e OECM em comparação ao demonstrado pelo OECN, uma vez que apresentaram razão de 1,69 e 1,59, respectivamente.

Os valores de CL<sub>50</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos da atividade ovicida dos OEs avaliados e do geraniol, podem ser observados na figura 9.



**Figura 9.** Valores de concentração letal 50 em µg/cm<sup>2</sup> dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (OECW), *Cymbopogon nardus* (OECN), *Cymbopogon flexosus* (OECF), *Cymbopogon martinii* (OECM) e do geraniol frente a ovos da pulga *Ctenocephalides felis felis*

A atividade ovicida do OECN (CL<sub>50</sub> = 11,98 µg.cm<sup>-2</sup>) frente a *C. felis felis* também foi evidenciada em um estudo publicado por Dos Santos *et al.* (2020), obtendo valor de CL<sub>50</sub> inferior ao encontrado no presente estudo. Os OEs de *Alpinia zerumbet* (CL<sub>50</sub> = 13,07 µg.cm<sup>-2</sup>),

*Cinnamomum* spp. ( $CL_{50} = 1,80 \mu\text{g.cm}^{-2}$ ), *Laurus nobilis* ( $CL_{50} = 2,41 \mu\text{g.cm}^{-2}$ ), *Mentha spicata* ( $CL_{50} = 30,39 \mu\text{g.cm}^{-2}$ ) e *O. gratissimum* ( $CL_{50} = 1,79 \mu\text{g.cm}^{-2}$ ), também avaliados no experimento de Dos Santos *et al.* (2020), também apresentaram propriedades ovicidas contra *C. felis felis*, destacando o OE de *O. gratissimum* por apresentar eficácia promissora mesmo em doses baixas do produto.

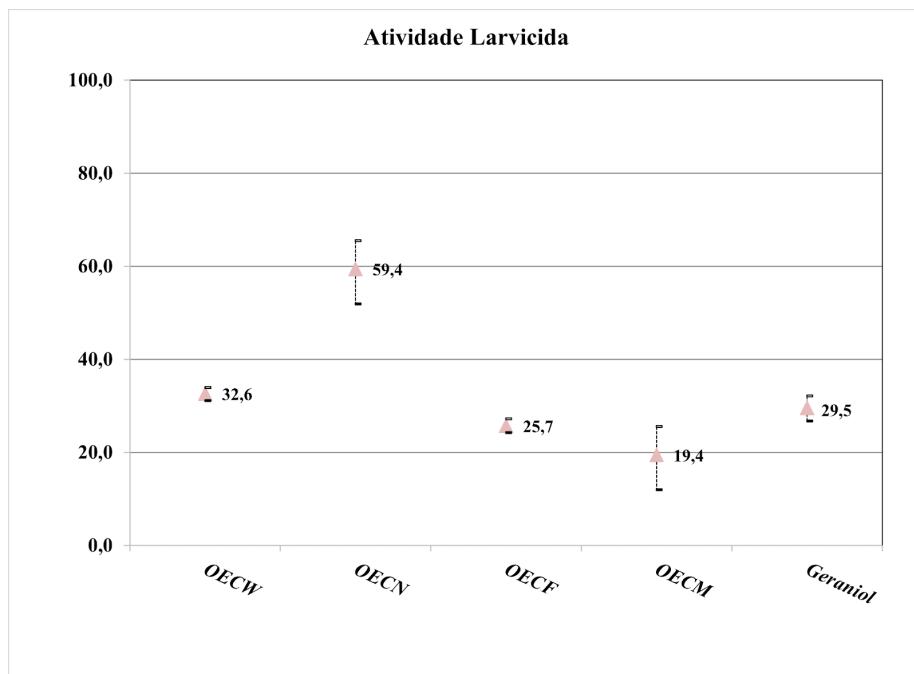
Outros OEs como *O. vulgare* ( $CL_{50} = 94,5 \mu\text{g/cm}^2$ ), *T. vulgaris* ( $CL_{50} = 13,5 \mu\text{g/cm}^2$ ) e *C. cassia* ( $CL_{50} = 3,0 \mu\text{g/cm}^2$ ) também demonstraram eficácia contra ovos de *C. felis felis* (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020b), mas com valores de  $CL_{50}$  inferiores aos obtidos nesse estudo, com exceção do OE *O. vulgare*, que obteve valor mais elevado.

Porém, resultados insatisfatórios com outro OE frente a *C. felis felis* foram publicados por Batista *et al.* (2016), no qual o OE de *S. mole* não foi capaz de impedir a eclodibilidade.

Quando comparadas as  $CL_{50}$  obtidas do estágio de larva, podemos observar que os OEs avaliados e o geraniol apresentaram a seguinte ordem de potência: OECM ( $CL_{50} = 19,4 \mu\text{g/cm}^2$ ) > OECF ( $CL_{50} = 25,7 \mu\text{g/cm}^2$ ) > Geraniol ( $CL_{50} = 29,5 \mu\text{g/cm}^2$ ) > OECW ( $CL_{50} = 32,6 \mu\text{g/cm}^2$ ) > OECN ( $CL_{50} = 59,4 \mu\text{g/cm}^2$ ).

A partir do exposto acima, é possível verificar que o OECM apresentou um menor valor de  $CL_{50}$  quando comparado ao geraniol e aos demais OEs testados, já o OECN apresentou o maior valor obtido. Quando realizado a comparação das potências relativas, percebe-se que o OECM, OECF e geraniol foram 3,06; 2,31 e 2,01 vezes mais potentes para larvas, quando comparados ao OECN, porém, não foi demonstrado diferença significativa entre o OECN e OECW (razão = 1,82).

Os valores de  $CL_{50}$  e seus respectivos valores mínimos e máximos da atividade larvicida dos OEs avaliados e do geraniol, podem ser observados na figura 10.



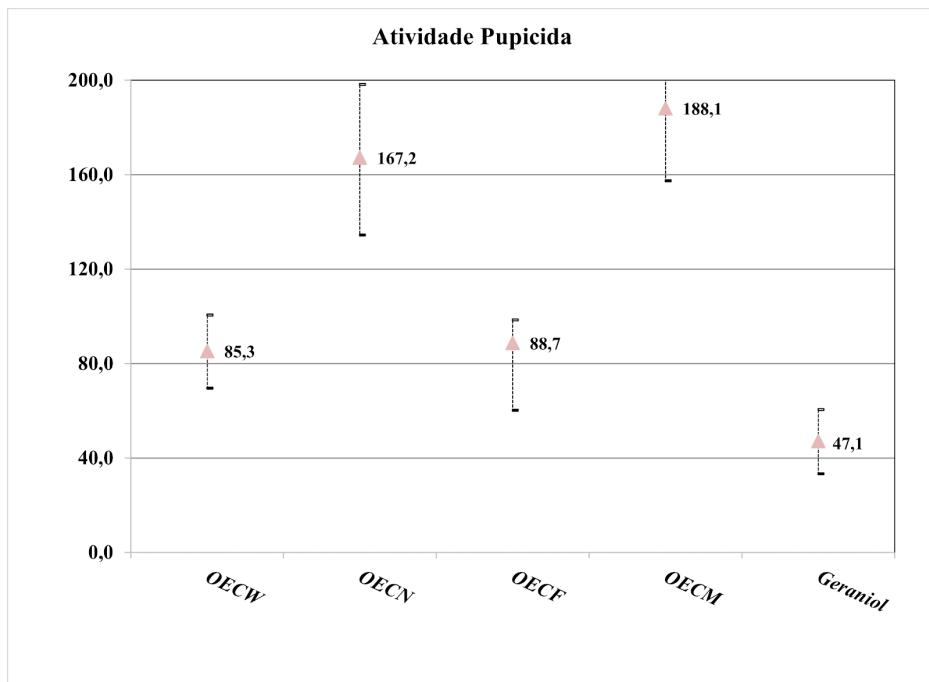
**Figura 10.** Valores de concentração letal 50 em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (OECW), *Cymbopogon nardus* (OECN), *Cymbopogon flexuosus* (OECF), *Cymbopogon martinii* (OECM) e do geraniol frente a larvas da pulga *Ctenocephalides felis felis*

A atividade larvicida de outros OEs frente a pulga *C. felis felis* também já foi relatada na literatura. Dos Santos *et al.* (2020). demonstraram maior sensibilidade do estágio de larva de *C. felis felis* aos OEs avaliados, com valores de CL<sub>50</sub> relativamente inferiores aos encontrados neste estudo, variando entre 0,43 e 12,57  $\mu\text{g}/\text{cm}^{-2}$ . Conceição *et al.* (2020b) também demonstraram atividade larvicida satisfatória para os OEs de *C. cassia* ( $\text{CL}_{50}=17,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *T. vulgaris* ( $\text{CL}_{50}=35,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *O. vulgare* ( $\text{CL}_{50}=155,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), apresentando valores inferiores e superiores aos encontrados neste experimento para os OEs de *C. cassia* e *O. vulgare*, respectivamente.

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> do estágio de pupa, podemos observar que os OEs avaliados e o geraniol apresentaram a seguinte ordem de potência: Geraniol ( $\text{CL}_{50}=47,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECW ( $\text{CL}_{50}=85,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECF ( $\text{CL}_{50}=88,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECN ( $\text{CL}_{50}=167,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECM ( $\text{CL}_{50}=188,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

A partir disso, é possível verificar que o constituinte geraniol apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub> quando comparado aos OEs testados e, dentre os óleos utilizados, o OECM apresentou o maior valor obtido. Com relação à potência relativa, foi possível verificar que o geraniol, OECW e OECF foram 3,99; 2,20 e 2,12 vezes mais potentes para pupas, respectivamente, quando comparados ao OECM. Porém, a razão obtida entre o OECN e o OECM foi inferior 2, demonstrando não haver diferença significativa de potência.

Os valores de CL<sub>50</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos da atividade pupicida dos OEs avaliados e do geraniol, podem ser observados na figura 11.



**Figura 11.** Valores de concentração letal 50 em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (OECW), *Cymbopogon nardus* (OECN), *Cymbopogon flexuosus* (OECF), *Cymbopogon martinii* (OECM) e do geraniol frente a pupas da pulga *Ctenocephalides felis felis*

A atividade pupicida de outros OEs também podem ser encontrados na literatura. Conceição *et al.* (2020b) demonstrou tal atividade frente a *C. felis felis* para os OEs de *C. cassia* ( $\text{CL}_{50} = 34,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *O. vulgare* ( $\text{CL}_{50} = 98,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *T. vulgaris* ( $\text{CL}_{50} = 203,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Quando comparados aos resultados obtidos para os OEs avaliados neste trabalho, é possível verificar que o OE de *C. cassia* foi o único a apresentar um valor de CL<sub>50</sub> inferior, já o OE de *T. vulgaris* apresentou CL<sub>50</sub> relativamente superior.

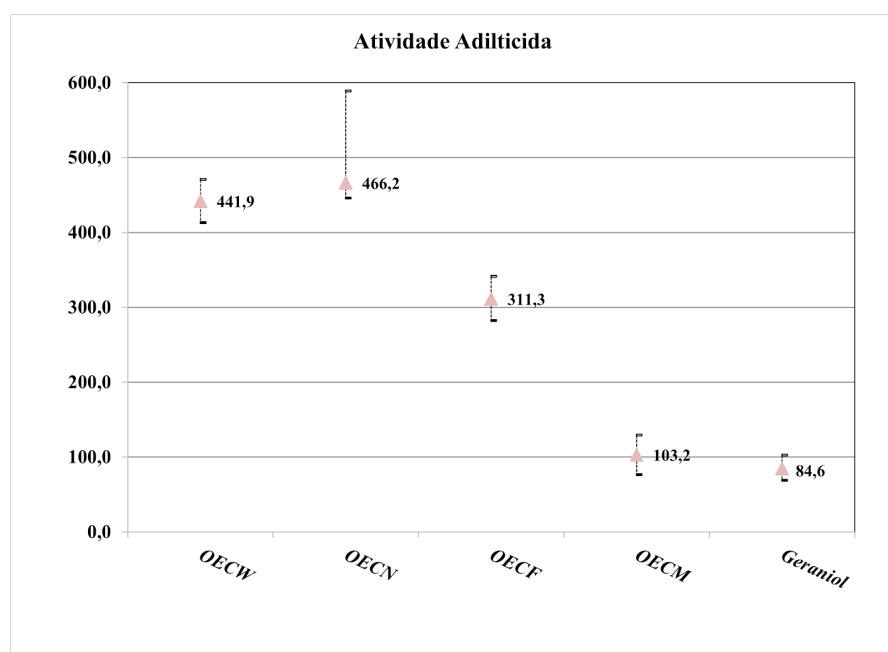
Outro experimento publicado por Freitas *et al.* (2020) também demonstrou eficácia frente a pupas de *C. felis felis* com a utilização dos OEs de *I. verum* ( $\text{CL}_{50} = 35,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *P. graveolans* ( $\text{CL}_{50} = 67,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> do estágio adulto, podemos observar que os OEs avaliados e o geraniol apresentaram a seguinte ordem de potência: Geraniol ( $\text{CL}_{50} = 84,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECM ( $\text{CL}_{50} = 103,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECF ( $\text{CL}_{50} = 311,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECN ( $\text{CL}_{50} = 466,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECW ( $\text{CL}_{50} = 441,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

O constituinte geraniol mais uma vez apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub> quando comparado aos demais OEs avaliados, já o OECW apresentou o maior valor obtido. Quando

realizado a comparação das potências relativas, percebe-se que o geraniol e o OECM foram 5,22 e 4,28 vezes mais potentes para adultos, respectivamente, quando comparados ao OECW. Não foi observado diferença significativa entre as razões obtidas pelo OECF (1,41) e OECN (0,94) quando comparado ao OECW.

Os valores de CL<sub>50</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos da atividade adulticida dos OEs avaliados e do geraniol, podem ser observados na figura 12.



**Figura 12.** Valores de concentração letal 50 em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (OECW), *Cymbopogon nardus* (OECN), *Cymbopogon flexuosus* (OECF), *Cymbopogon martinii* (OECM) e do geraniol frente a adultos da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Segundo o estudo relatado por Dos Santos *et al.* (2020), o OECN apresentou atividade adulticida ( $\text{CL}_{50}= 5,85 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) *in vitro* frente *C. felis felis*, assim como os outros OEs avaliados (*Alpinia zerumbet*, *Cinnamomum* spp., *Laurus nobilis*, *Mentha spicata*, *O. gratissimum*), apresentando valores de CL<sub>50</sub> variando entre 5,85 e 597,56  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  após 24 horas, e entre 4,49 e 456,27  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  após 48 horas de exposição. O OECN apresentou valor de CL<sub>50</sub> significativamente inferior ao descrito neste trabalho.

Atividade do OE de *Syzygium aromaticum* e seu principal constituinte eugenol no controle de adultos de *C. felis felis* foi descrito por Lambert *et al.* (2020), obtendo valores de CL<sub>50</sub> de 5,70  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e 2,40  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente, após 24 horas de desafio. Tais resultados também são inferiores aos obtidos no presente estudo.

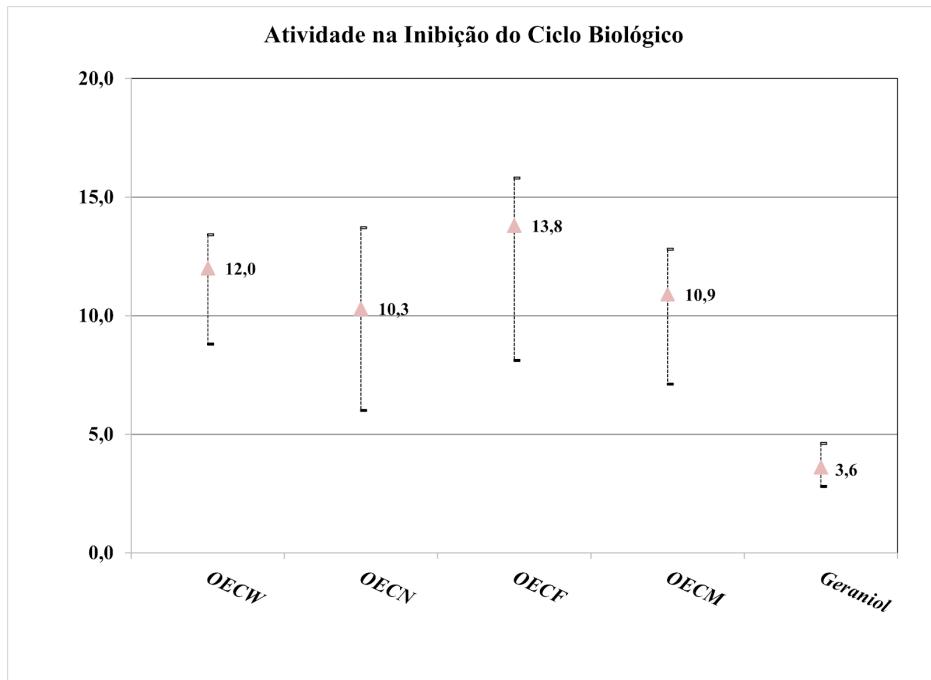
Conceição *et al.* (2020b) também demonstraram tal atividade para os OEs de *C. cassia* ( $CL_{50}=74,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *T. vulgaris* ( $CL_{50}=64,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *O. vulgare* ( $CL_{50}=33,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), sendo este último o melhor valor de  $CL_{50}$  obtido para adultos nos tempos de 24 e 48 horas (33,5 e 21,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente).

Da mesma forma, Batista *et al.* (2016) também descreveram a eficácia adulticida de OEs obtidos a partir de frutas e folhas de *Schinus molle*, obtendo 100% de eficácia nas concentrações de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $CL_{50} = 353,95 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e 50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $CL_{50} = 12,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), respectivamente.

Quando comparadas as  $CL_{50}$  obtidas na inibição do ciclo biológico, podemos observar que os OEs avaliados e o geraniol apresentaram a seguinte ordem de potência: geraniol ( $CL_{50} = 3,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECN ( $CL_{50} = 10,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECM ( $CL_{50} = 10,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECW ( $CL_{50} = 12,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OECF ( $CL_{50} = 13,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

A partir dos valores de  $CL_{50}$  expostos acima, é possível verificar que o geraniol apresentou um menor valor de  $CL_{50}$  quando comparado aos demais OEs testados, já o OECF apresentou o maior valor obtido. Quando realizado a comparação das potências relativas, percebe-se que o geraniol foi 3,83x mais potente na ICB quando comparado ao OECF. Não foi observado diferença significativa entre as razões obtidas pelo OECN, OECM e o OECW (1,33; 1,26 e 1,15, respectivamente), quando comparados ao OECF.

Os valores de  $CL_{50}$  e seus respectivos valores mínimos e máximos encontrados na inibição do ciclo biológico frente a *C. felis felis* dos OEs avaliados e do geraniol, podem ser observados na figura 13, a seguir.



**Figura 13.** Valores de concentração letal 50 em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (OECW), *Cymbopogon nardus* (OECN), *Cymbopogon flexuosus* (OECL), *Cymbopogon martinii* (OECLM) e do geraniol frente a inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*

Alguns trabalhos demonstrando a atividade de OE's obtidos a partir do gênero *cymbopogon* na ICB de outros insetos podem ser encontrados na literatura.

Segundo Ketoh, Koumaglo e Glitho (2005), o OE de *C. schoenanthus* foi capaz de inibir ovos e larvas de *Callosobruchus maculatus* (caruncho-do-feijão) na concentração mais alta testada ( $33,3 \mu\text{l/l}$ ). Rodríguez-González *et al.* (2019) relataram que a maior dose do OE de *C. winterianus* ( $120 \mu\text{L}$ ) aplicadas no feijão foram capazes de afetar o desenvolvimento de *Acanthoscelides obtectus*, diminuindo significativamente a emergência desse inseto ( $53,50 \pm 3,40$ ) em relação às outras doses ( $60, 24, 12, 6 \mu\text{L}$ ) e o controle. O impacto do OE de *C. flexuosus* e dos seus constituintes majoritários (citral e acetato de geranila) na eclosão e desenvolvimento larval do mosquito *A. aegypti* também foi relatado por Castillo-Morales *et al.* (2021), demonstrando que todas as concentrações de acetato de geranila ( $6, 18$  e  $30 \text{ mg/L}^{-1}$ ) diminuíram a eclosão dos ovos, enquanto o OE ( $3$  e  $6 \text{ mg/L}^{-1}$ ) alterou a muda entre ínstars larvais e entre larvas e pupas em comparação com o grupo controle.

Gusmão *et al.* (2013), em um estudo comparando a atividade dos OEs de *Eucalyptus citriodora*, *E. staigeriana*, *C. winterianus* e *Foeniculum vulgare* no manejo de uma praga agrícola, também demonstrou que o OE de *C. winterianus* foi capaz de reduzir em 100% a oviposição e emergência de adultos de *Callosobruchus maculatus* na maior concentração utilizada ( $622,5 \text{ ppm}$ ).

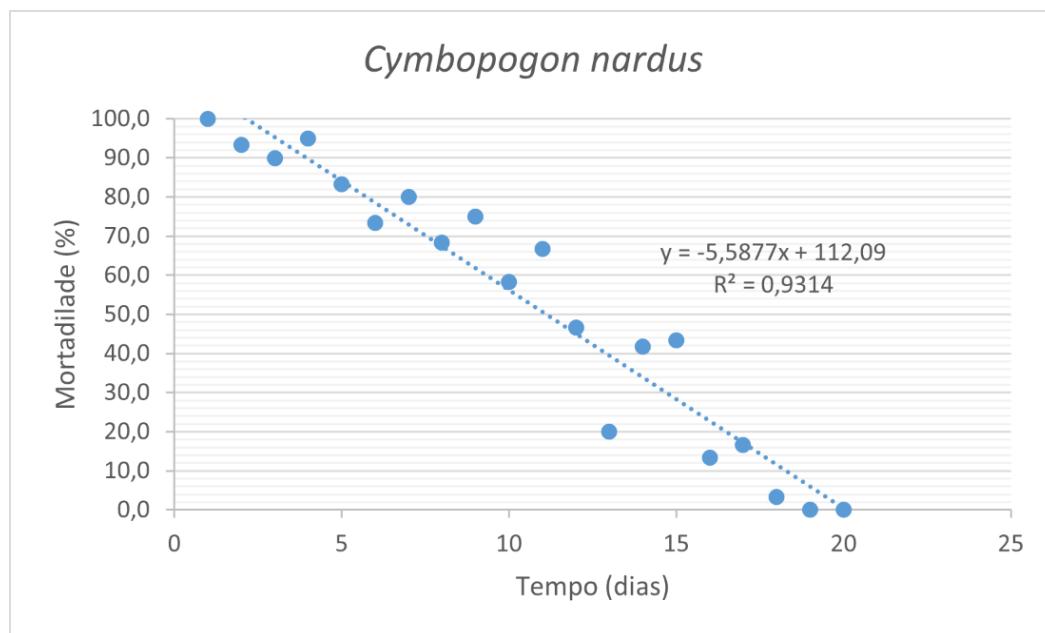
Baseado nos valores de CL<sub>50</sub> obtidos a partir da atividade inseticida e ICB de todos os estágios de *C. felis felis*, é possível observar que o geraniol apresentou menores valores de CL<sub>50</sub> na ICB e para todos os estágios de *C. felis felis* avaliados, exceto para o estágio larval. Apesar disso, demonstrou ser uma molécula promissora para o desenvolvimento de formulações ectoparasiticidas para o controle dessa pulga tanto no ambiente quanto no hospedeiro. O OE de *C. martinii* demonstrou ser capaz de eliminar as larvas de *C. felis felis* em menores concentrações, porém, demonstrou ter menor eficácia pupicida e atividade mediana na ICB quando comparado aos valores de CL<sub>50</sub> obtidos nos demais OEs avaliados e geraniol. O OE de *C. nardus* não apresentou resultados tão promissores frente aos estágios imaturos e adultos de *C. felis felis* quando comparado aos outros OEs e ao geraniol, obtendo os maiores valores de CL<sub>50</sub> para as fases de ovo e larva, e o segundo maior valor obtido para pupa e adulto, porém, dentre os OEs avaliados, foi o que apresentou melhor atividade na ICB, com resultado inferior somente ao geraniol. O OE de *C. winterianus* apresentou o segundo menor valor de CL<sub>50</sub> encontrado para os estágios de ovo e pupa, porém, obteve o maior valor demonstrado para adultos e o segundo maior para larvas e na ICB. Já o OE de *C. flexuosus* obteve valores de CL<sub>50</sub> medianos para todos os estágios avaliados, quando comparado ao geraniol e os outros OEs utilizados neste experimento, porém demonstrou o maior valor de CL<sub>50</sub> na ICB.

Os valores de CL<sub>50</sub> obtidos na ICB foram consideravelmente inferiores aos demonstrados para os estágios de ovo, larva, pupa e adulto de *C. felis felis* expostos aos 4 OEs avaliados e ao geraniol, ou seja, menores concentrações das soluções são necessárias para inibir a emergência de pulgas adultas. Tal resultado pode estar relacionado com o maior tempo de exposição do parasito à molécula avaliada.

Quando comparado aos resultados de CL<sub>50</sub> obtidos com outros OEs descritos na literatura para o controle de pulgas, é possível observar que os valores demonstrados no presente trabalho foram superiores à grande maioria encontrada na literatura. Porém, vale ressaltar que este é o primeiro estudo objetivando o controle da pulga *C. felis felis* através da utilização do geraniol e dos OEs de *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*. Apesar de outros trabalhos utilizando o OE de *C. nardus* frente a este ectoparasito já terem sido publicados, ainda são necessários novos estudos para estabelecimento da sua atividade inseticida e na interrupção do ciclo biológico. Além disso, outros ensaios visando o desenvolvimento de formulações ou até mesmo para a avaliação da atividade sinérgica destes OEs contra essa subespécie de pulga podem ser realizados.

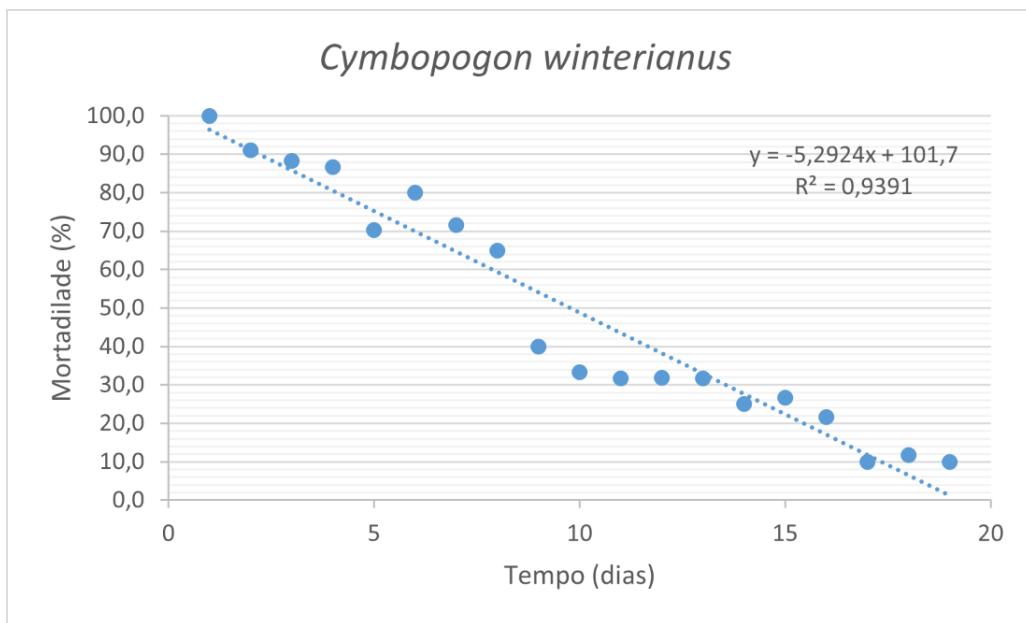
#### **4.9 Eficácia Residual dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon martinii* e do geraniol frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis***

Para o OE de *C. nardus* a concentração utilizada para a eficácia residual foi de 800 µg/cm<sup>2</sup> (40.000 µg/mL). O percentual de mortalidade foi de 100% apenas no primeiro dia e foi decrescendo até a zero no dia 19. Os dados de eficácia residual para o OE de *C. nardus* estão demonstrados na figura 14, a seguir.



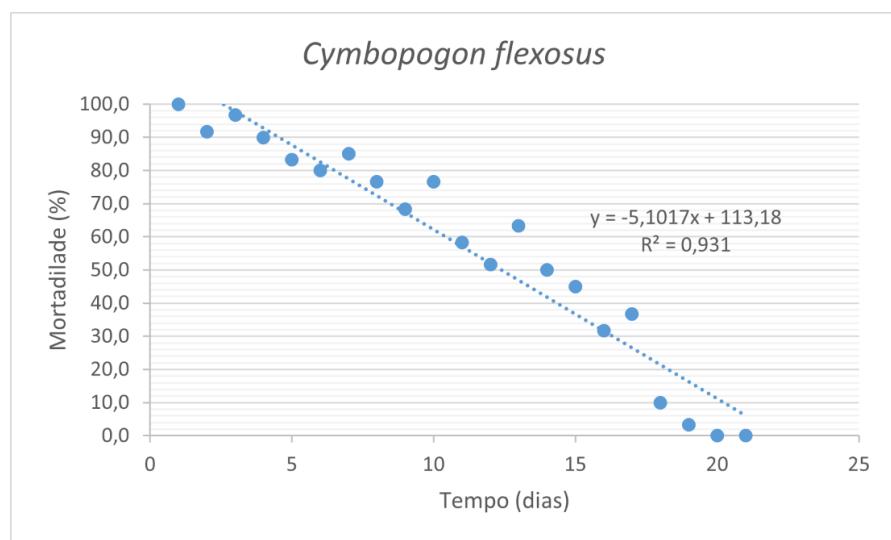
**Figura 14.** Eficácia residual do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis*

O OE de *C. winterianus* também foi testado na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> (40.000 µg/mL) e apresentou percentual de mortalidade igual a 100% no primeiro dia de análise e foi decaindo até a zero após 20 dias do início desafio. Os dados de eficácia residual para o OE de *C. winterianus* estão demonstrados na figura 15.



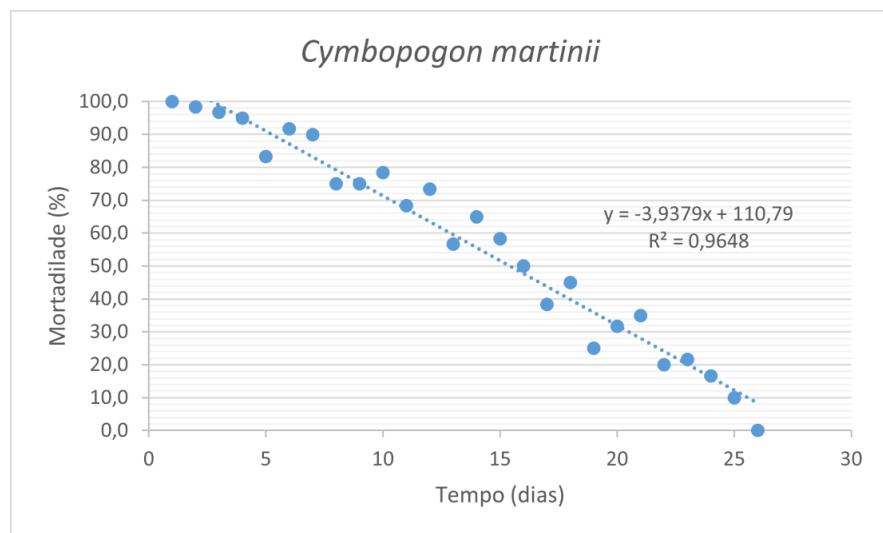
**Figura 15.** Eficácia residual do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis*

O OE de *C. flexuosus* foi testado também na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup>(40000 µg/mL) e apresentou percentual de mortalidade igual a 100% no primeiro dia de análise e foi decaindo até a zero após 19 dias do início do desafio. Os dados de eficácia residual para o OE de *C. flexuosus* estão demonstrados na figura 16.



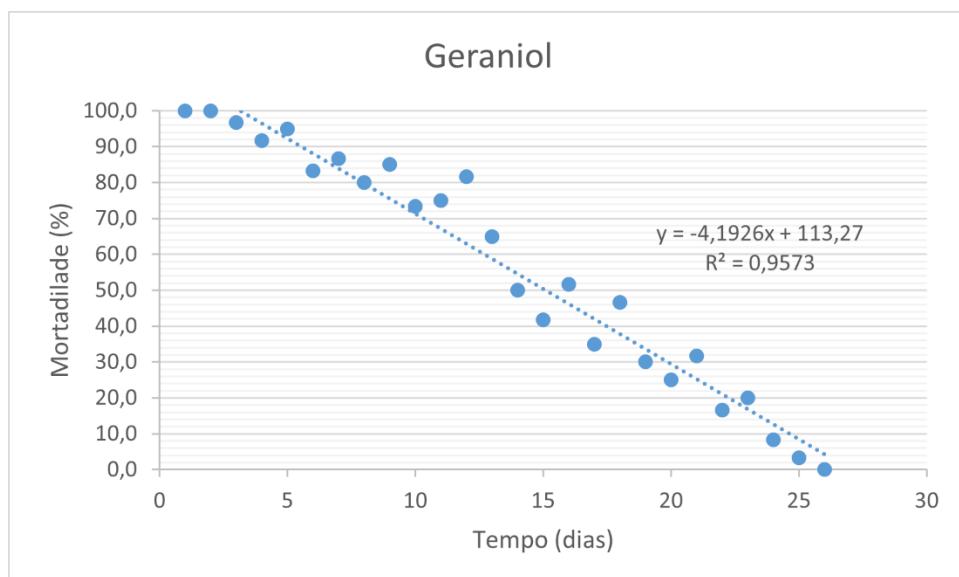
**Figura 16.** Eficácia residual do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Para o OE de *C. martinii* (Figura 17) a concentração utilizada foi de 600 µg/cm<sup>2</sup> (30000 µg/mL) e foi possível observar 100% de mortalidade após 24 horas do desafio e a eficácia residual foi decaindo até a zero 26 dias após o início do desafio.



**Figura 17.** Eficácia residual do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Para o geraniol também foi utilizada a concentração de 600 µg/cm<sup>2</sup> (30000 µg/mL) e foi possível observar 100% de mortalidade após 48 horas do desafio, e a eficácia residual foi decaindo até a zero no vigésimo sexto dia após início do desafio, conforme demonstrado na figura 18.



**Figura 18.** Eficácia residual do geraniol frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Juntamente com os desafios, sempre foi realizado o controle positivo (fipronil 8 µg/cm<sup>2</sup> - 400 µg/mL) que apresentou eficácia residual de 98% no vigésimo sexto dia após o desafio, além do controle negativo e placebo, que não apresentaram mortalidade durante as análises.

O experimento de eficácia residual foi realizado com o intuito de avaliar a longevidade da atividade inseticida do geraniol e dos OEs de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii* frente ao estágio adulto da pulga *C. felis felis*. Na avaliação, foi possível observar que o OE de *C. martinii* e o constituinte geraniol foram os que apresentaram maior persistência na atividade inseticida, com ausência de eficácia após 26 dias de avaliação. Na sequência, podemos observar o OE de *C. winterianus* (20 dias), *C. nardus* (19 dias) e *C. flexuosus* (19 dias).

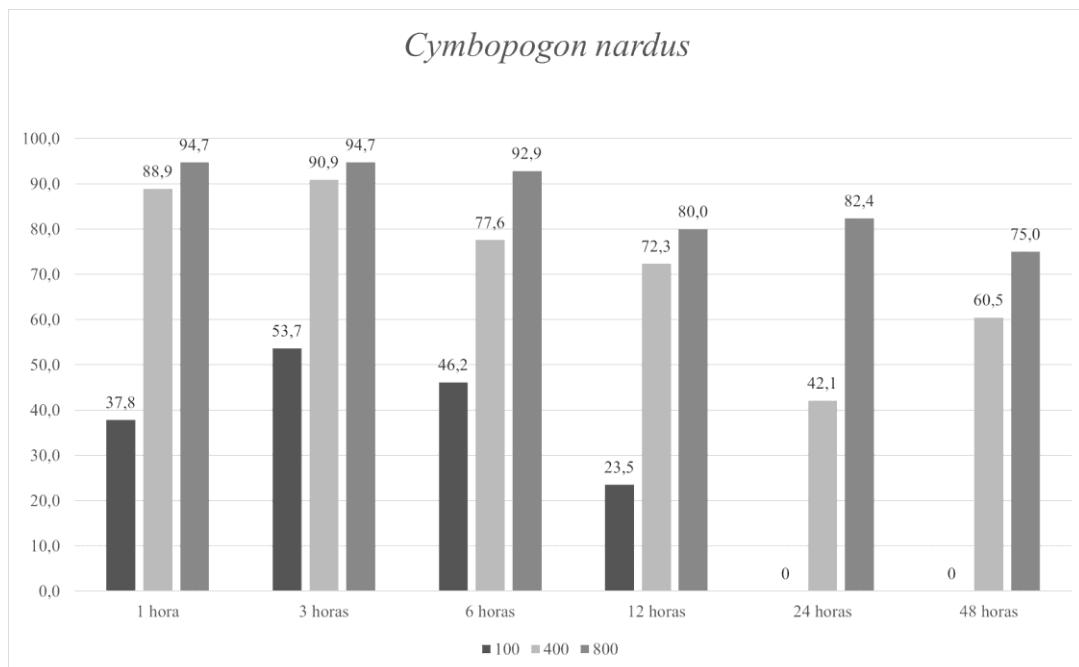
Segundo Ellse e Wall (2014), a aplicabilidade dos OE's no controle de pulgas é questionável devido as diferenças de volatilidade desses compostos, resultando em uma persistência limitada no hospedeiro. Apesar disso, os resultados obtidos neste estudo apontam um potencial promissor para o desenvolvimento de biopesticidas de uso veterinário menos nocivos ao ambiente, com atividade permanecendo acima de 80% por 5 dias para todos os OE's avaliados, com exceção do *C. winterianus*, que apresentou percentual de 70 para o mesmo período. Além disso, podemos destacar o OE de *C. martinii*, *C. flexuosus* e o geraniol, por apresentarem persistência acima de 70% por até 10 dias.

Na literatura, ainda existem poucos estudos evidenciando o efeito residual de óleos essenciais contra pulgas. Conceição *et al.* (2020b) relataram que os óleos voláteis de *Origanum vulgare* (orégano) e *Thymus vulgaris* (tomilho) apresentaram eficácia residual superior a 80% por 6 dias, enquanto o OE de *Cinnamomum cassia* (Cassia) apresentou esse resultado por 4 dias. Resultados semelhantes ao orégano e tomilho foram encontrados neste estudo. Por outro lado, Freitas *et al.* (2021) destacaram que os OE's de *Illicium verum* e *Pelargonium graveolens* apresentaram atividade inseticida por aproximadamente 18 e 13 dias, respectivamente, demonstrando tempos de persistência inferiores aos encontrados nesse experimento.

#### **4.10 Atividade repelente dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon martinii* e do geraniol frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis***

Na análise da atividade repelente do OE de *C. nardus*, podemos observar que o percentual de repelência (PR) obtido na maior concentração avaliada (800 µg/cm<sup>2</sup>) foi de 94,7%

nos tempos de 1 e 3 horas, após isso, foi observado resultados de 92,9; 80,0; 82,4 e 75% nas avaliações de 6, 12, 24 e 48 horas, respectivamente. Para a concentração de  $400 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o PR observado foi de 88,9; 90,9; 77,6; 72,3; 42,1 e 60,5% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas, respectivamente. Já a menor concentração avaliada ( $100 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), resultou em 37,8; 53,7; 46,2 e 23,5% de repelência nos 4 primeiros tempos de avaliação, respectivamente, porém, nas avaliações de 24 e 48 horas não foi demonstrado atividade repelente. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 19, a seguir.



**Figura 19.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Cymopogon nardus* nas concentrações de 100, 400 e  $800 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

A atividade repelente do OE de *C. nardus* já foi descrito anteriormente para outros insetos de importância na agricultura e na saúde, porém, trabalhos referentes a sua atuação repelente frente a pulga *C. felis felis* ainda são escassos na literatura.

Segundo estudos, os monoterpenos oxigenados (citronelal, geraniol, citronelol, geranal e citral) encontrados como constituintes majoritários desse OE (DE TOLEDO *et al.*, 2016) funcionam sinergicamente como repelentes (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

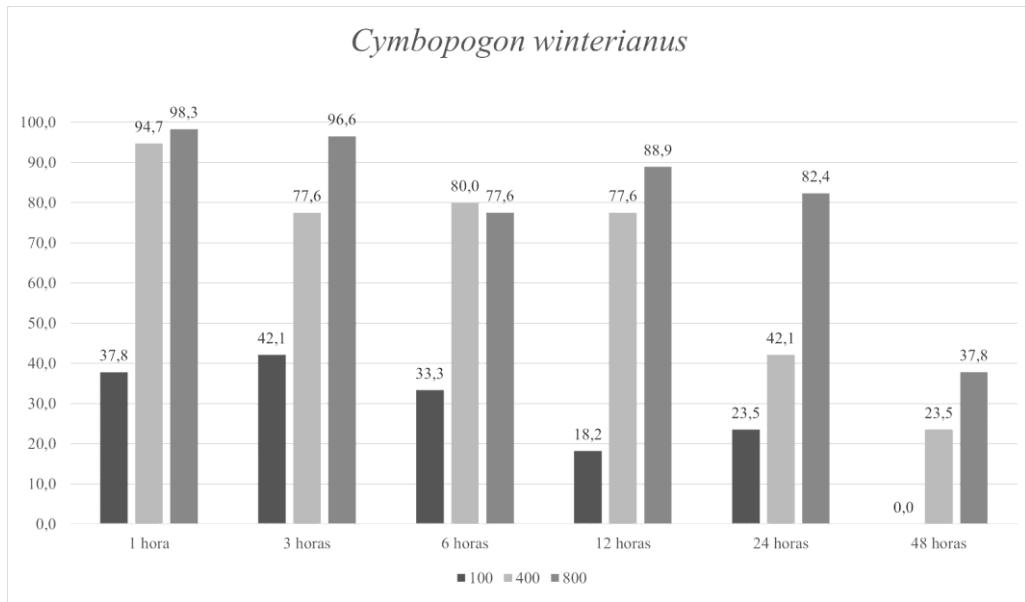
Jannatan e rahayu (2021) descreveram a eficácia repelente do OECN ( $0,57 \text{ mg}/\text{cm}^2$ ) no controle de baratas alemãs (*Blattella germanica*), com percentuais de repelência variando de

65,72 a 100% em 1 hora de desafio, além da persistência da sua atividade após 24 horas. Tais resultados são superiores aos encontrados no presente estudo frente a *C. felis felis*.

Segundo Hernandez-Lambraño *et al.* (2015), o OE de *C. nardus* apresentou maior atividade repelente quando comparado às outras plantas do gênero *Cymbopogon* avaliadas no estudo, apresentando valores de CL<sub>50</sub> de 0,03 e 0,04 µL/cm<sup>2</sup>, para *Oryzaephilus surinamensis* e *Sitophilus zeamais*, respectivamente.

Uma loção repelente com 5 concentrações do OECN (0, 2, 3, 4, 5% p/p) foi avaliada por Arpiwi, Muksin e Kartin (2020) frente ao mosquito *A. aegypti*, demonstrando que o aumento da eficácia foi proporcional ao aumento da concentração da solução, alcançando 100% de proteção com loção contendo 5% do OE, nos tempos de 0, 1 e 2 horas de desafio. Resultados promissores com outras formulações a base de citronela frente a mosquitos também já foram publicadas, como o experimento realizado por Sritabutra e Soonwera (2013) frente *A. argypti* (10% p/p) e por Solomon, Gebre-Mariam e Asres (2012) contra *Anopheles arabiensis* (10 e 20% p/p).

Após a análise da atividade repelente do OE de *C. winterianus* nos tempos de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas de desafio, é possível observar que os percentuais de repelência obtidos na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> apresentaram variação entre 37,8 e 98,3%, sendo a maior percentagem demonstrada na avaliação de 1 hora, enquanto a menor foi visualizada em 48 horas. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, o PR observado apresentou variação de 23,5 a 94,7%, sendo o maior valor encontrado no tempo de 1 hora e o menor na leitura de 48 horas. Já a menor concentração avaliada (100 µg/cm<sup>2</sup>), resultou em uma variação de PR de 0 a 37,8%, com o maior e menor valor também demonstrados nas avaliações de 1 e 48 horas, respectivamente. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 20.

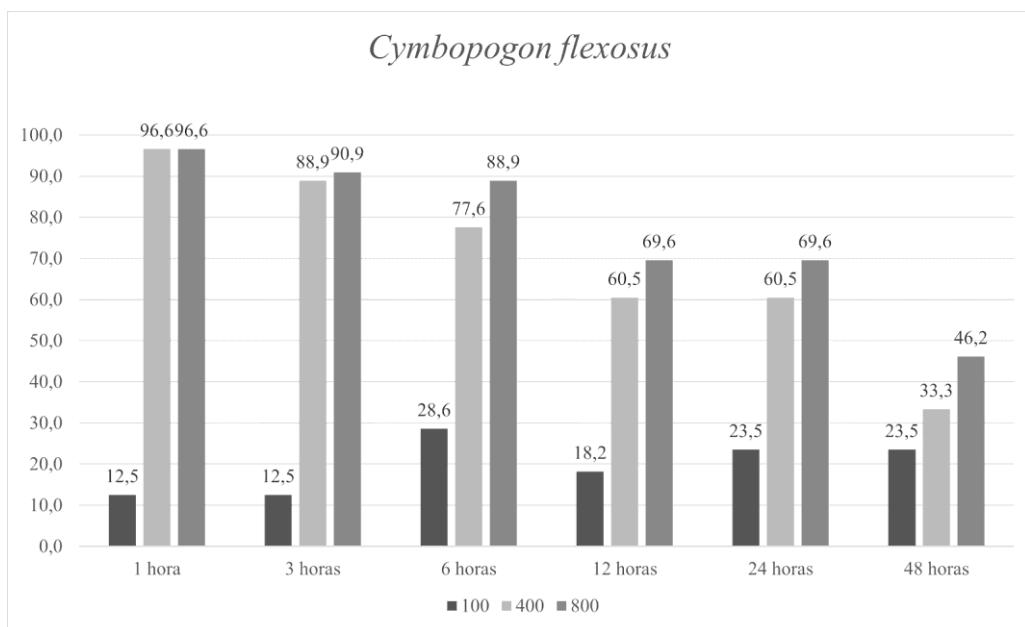


**Figura 20.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Cymopogon winterianus* nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm<sup>2</sup> frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

A atividade repelente do OE de *C. winterianus* já foi descrita para pragas de importância agrícola, como o caruncho-do-feijão (*Callosobruchus maculatus*), apresentando eficácia para adultos em todas as concentrações testadas (207,5, 332, 456,5 e 622,5 ppm) no experimento de Gusmão *et al.* (2013). Sua propriedade repelente frente a pragas urbanas, como a barata alemã (*Blattella germanica*), também já foi relatada por Chooluck *et al.* (2019), demonstrando PR de 85%.

Em um experimento realizado por Deletre *et al.* (2013), também foi possível demonstrar resultados de repelência promissores do OE de *C. winterianus* frente a adultos de *Anopheles gambiae*, podendo funcionar como repelente tópico.

Para o OE de *C. flexuosus*, o PR observado na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 96,6; 90,9 e 88,9 nas avaliações de 1, 3 e 6 horas. Nos tempos de 12 e 24 horas, não houve divergência do percentual de repelência, demonstrando um valor de 69,6% para ambos, havendo um declínio somente na leitura de 48 horas (PR=46,2%). Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, o PR observado na primeira hora do experimento foi a mesma obtida na maior concentração avaliada, correspondente a 800 µg/cm<sup>2</sup> (PR = 96,6%). Nos demais tempos de avaliação (3, 6, 12, 24 e 48 horas), foi observado PR de 88,9; 77,6; 60,5; 60,5 e 33,3%, respectivamente. Já na concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup>, o PR foi inferior a 30% para todos os momentos de avaliação. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 21.



**Figura 21.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* nas concentrações de 100, 400 e 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

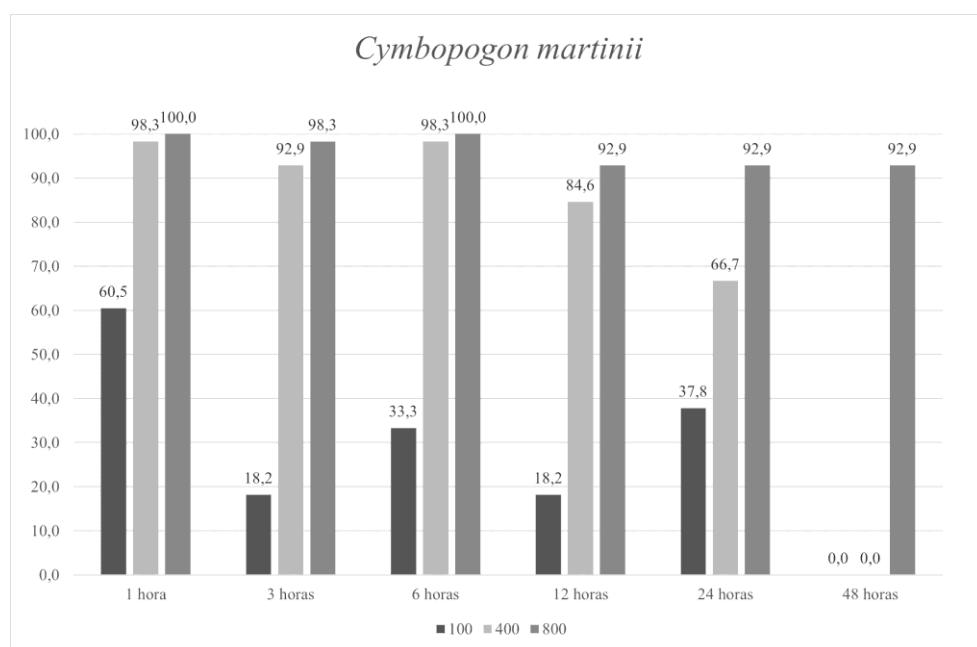
O potencial repelente do OE de *C. flexuosus* frente a pulga *C. felis felis* ainda não foi relatado, porém, sua atividade frente a outros insetos hematófagos e de importância em produtos alimentícios armazenados podem ser encontrados na literatura.

Adam (2020) avaliou formulações a base de extratos de Manjericão (*Ocimum basilicum*), Tomilho Selvagem (*Coleus forskohlii*), Kafure (*Eucalyptus camaldulensis*) e Capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), nas concentrações de 50 e 100%, como repelentes de *Anopheles gambiae*. Porém, o produto a base de *C. flexuosus* demonstrou tempos de proteção e repelência de 54 minutos, resultado relativamente inferior ao alcançado pelo Tomilho selvagem (228 minutos) e manjericão (116 minutos). Outro estudo *in vitro* utilizando uma formulação à base de OE de *C. flexuosus* frente ao mosquito *Anopheles* spp. foi publicado por Bhatt e Kale (2019), porém, nesse caso, os tecidos tratados com a solução apresentaram boa repelência contra mosquitos mesmo após 25 lavagens.

Através de um estudo *in vitro*, Caballero-Gallardo, Olivero-Verbel e Stashenko (2012) demonstraram que os OEs de *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia origanoides* foram eficazes como repelentes do besouro *Tribolium castaneum*, apresentando diminuição da ação na seguinte ordem: *Cymbopogon martinii* > *C. flexuosus* ≈ *L. origanoides*. Recentemente, Dos Santos *et al.* (2022) também avaliaram o potencial dos OEs de *C. flexuosus* e *Alpinia zerumbet* contra outra praga agrícola, popularmente conhecida como caruncho-do-

feijão (*Callosobruchus maculatus*), porém, em relação à repelência, ambos os óleos foram classificados como neutros.

Após a análise da atividade repelente do OE de *C. martinii*, foi possível observar que o PR observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi superior a 92,9% em todos os tempos de avaliação, alcançando 100% de eficácia nas leituras de 1 e 6 horas. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, o percentual de repelência foi superior a 92,9% nas três primeiras avaliações (1, 3 e 6 horas), havendo um declínio de 84,6% e 66,7% nos tempos de 12 e 24 horas, respectivamente. Na avaliação de 48 horas não foi observado eficácia para essa concentração. Já na menor concentração avaliada (100 µg/cm<sup>2</sup>), foi observado PR de 60,5; 18,2; 33,3; 18,2 e 37,8% nas avaliações de 1, 3, 6, 12 e 24 horas. Também não foi demonstrado atividade repelente para essa concentração na avaliação de 48 horas. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 22.

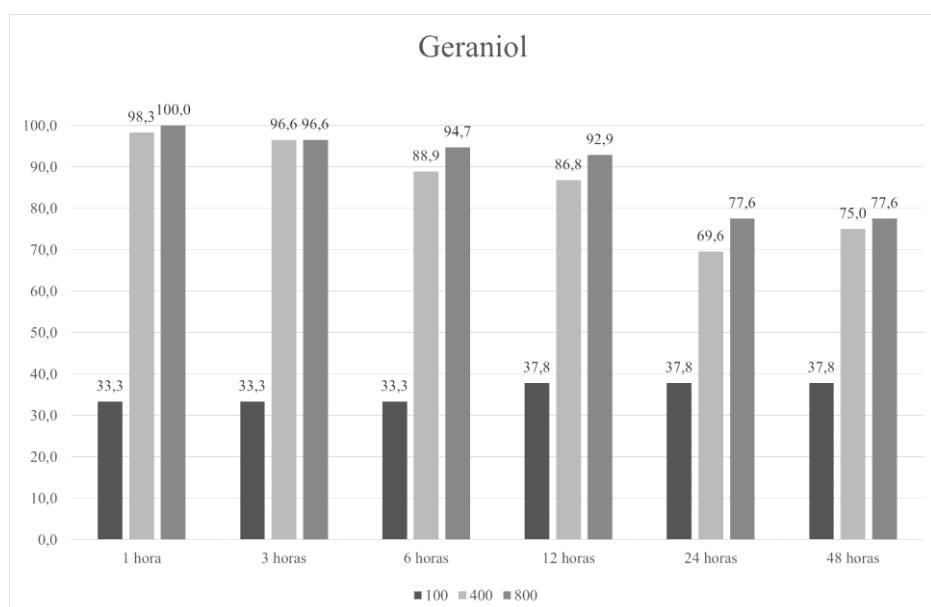


**Figura 22.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm<sup>2</sup> frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

A propriedade repelente do OE de *C.martinii* frente a pulga *C. felis felis* também não encontra-se disponível na literatura. No entanto, resultados promissores da sua utilização frente ao mosquito *Anopheles culicifacies* já foram relatados há anos atrás por Ansari e Razdan (1994), demonstrando 100% de eficácia repelente durante 12 horas de exposição. A atividade desse OE como repelente de insetos causadores de danos em produtos armazenados também já foi descrita, tais como: *Tribolium castaneum* (CABALLERO-GALLARDO; OLIVERO-

VERBEL; STASHENKO, 2012; DEVI *et al.*, 2020; KUMAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2007), *Callosobruchus chinensis* (KUMAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2007), *Oryzaephilus surinamensis* e *Sitophilus zeamais* (HERNANDEZ-LAMBRAÑO *et al.*, 2015).

Para o constituinte geraniol, o PR observado na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 100% na avaliação de 1 hora e superior a 92,9% nos tempos de 3, 6 e 12 horas de avaliação, havendo um declínio para 77,6% em 24 e 48 horas de exposição. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, o PR observado foi de 98,3; 96,6; 88,9; 86,8; 69,6 e 75% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas, respectivamente. Já na menor concentração avaliada (100 µg/cm<sup>2</sup>), o PR variou entre 33,3 e 37,8% para todos os momentos de avaliação. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 23.



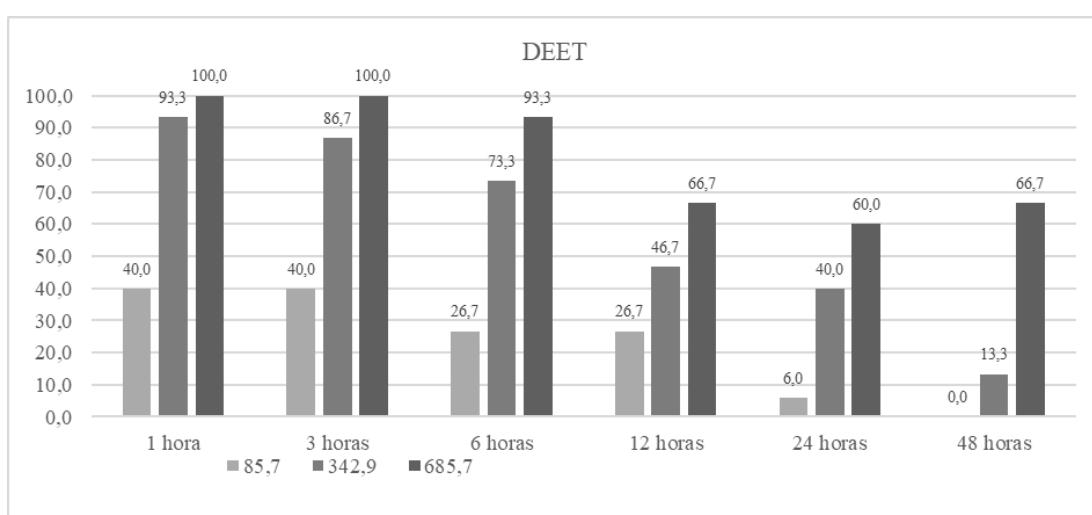
**Figura 23.** Percentual de repelência do geraniol nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm<sup>2</sup> frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

Chooluck *et al.* (2019), ao avaliarem os efeitos de repelência de OEs de *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus*, *Citrus hystrix* e de seus constituintes majoritários (citronelol, geraniol, citronelal, 1,8-cineol, acetato de linalil e limoneno) contra *Blattella germanica*, observaram que as atividades do citronelol (PR = 96,67%) e geraniol (PR = 95%) foram significativamente maiores do que as encontradas para dos óleos de *E. globulus* (PR = 85%) e *C. winterianus* (PR = 85%) ( $P<0,05$ ), corroborando com o resultado obtido no presente estudo, em que o geraniol isoladamente apresentou eficácia repelente superior ao OEs avaliados, exceto o OE de *C. martinii*.

Resultados insatisfatórios com a utilização do geraniol como repelente dos besouros *Callosobruchus chinensis* e *Tribolium castaneum* também já foram relatados por Kumar, Srivastava e Dubey (2007). Segundo os autores, o geraniol, principal constituinte do OE de *C. martinii*, não foi tão eficaz quanto o próprio óleo.

A atividade repelente do geraniol também já foi descrita por Eden *et al.* (2020) para insetos hematófagos, demonstrando eficácia de 78% frente ao mosquito *A. aegypti*. Tal atividade foi medida com base no período de proteção conferido contra as picadas do mosquito durante um período avaliação de uma hora. Atividades repelentes promissores dessa molécula isolada frente a mosquitos também foram descritas por Reeves e Miller (2010) e Müller *et al.* (2009), assim como a sua eficácia em associação com outras moléculas (DE ANDRADE *et al.*, 2022).

Para o DEET, o PR observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 100,0; 100,0; 93,3; 66,7; 60,0 e 66,7% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas, respectivamente. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, o percentual de repelência foi 93,3; 86,7; 73,3; 46,7; 40,0 e 13,3% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas, respectivamente. Já para a concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup>, o PR foi inferior a 40%. Os percentuais de repelência obtidos em cada concentração e por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 24.



**Figura 24.** Percentual de repelência do controle positivo (N, N-Dietil-m-Toluamida) nas concentrações de 100, 400 e 800 µg/cm<sup>2</sup> frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*

Quanto à atividade repelente, podemos observar a eficácia dos OEs e do geraniol na seguinte ordem: OECM > Geraniol > OECW > OECN > OECF.

Quando comparados os resultados obtidos neste experimento, é possível perceber que na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> o OE de *C. martinii* e o geraniol foram os únicos a apresentaram

PR de 100% na primeira hora após desafio. Porém, o OE de *C. martinii* destacou-se do controle positivo e dos demais OEs por apresentar PR acima de 92,9% em todos os tempos avaliados nessa mesma concentração, além de manter a percentagem de 100% na avaliação de 6 horas (tabela 17).

Na concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup>, os OEs avaliados e o geraniol não apresentaram eficácia de 100% em nenhum tempo de avaliação, sendo o maior PR (98,3%) também demonstrado pelo geraniol e OE de *C. martinii* na avaliação de 1 hora. O OE de *C. martinii*, apesar de apresentar umas das maiores eficáncias nas primeiras horas de avaliação (1, 3, 6, 12 e 24 horas), foi o único que não apresentou eficácia após 48 horas de experimentação (tabela 17).

Em relação a concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup>, o geraniol, os OE's utilizados e o DEET demonstraram percentuais inferiores a 60,5% em todos os momentos de avaliação. O OE de *C. nardus*, *C. winterianus* e *C. martinii* apresentaram eficácia nula somente no último tempo de leitura (48 horas), com exceção do *C. nardus*, que demonstrou tal perfil desde a avaliação de 24 horas (tabela 17).

**Tabela 17.** Percentual de repelência dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon martinii* e geraniol frente a pulga *Ctenocephalides felis felis*

Óleo Essencial	µg/cm <sup>2</sup>	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
OECN	100	37,8	53,7	46,3	23,5	0	0
	400	88,9	90,9	77,6	72,3	42,1	60,5
	800	94,7	94,7	92,9	80,0	82,4	75,0
OECW	100	37,8	42,1	33,3	18,2	23,5	0
	400	94,7	77,6	80,0	77,6	42,1	23,5
	800	98,3	96,6	77,6	88,9	82,4	37,8
OECF	100	12,5	12,5	28,6	18,2	23,5	23,5
	400	96,6	88,9	77,6	60,5	60,5	33,3
	800	96,6	90,9	88,9	69,6	69,6	46,2
OECM	100	60,5	18,2	33,3	18,2	37,8	0
	400	98,3	92,9	98,3	84,6	66,7	0
	800	100,0	98,3	100,0	92,9	92,9	92,9
Geraniol	100	33,3	33,3	33,3	37,8	37,8	37,8
	400	98,3	96,6	88,9	86,8	69,6	75,0
	800	100,0	96,6	94,7	92,9	77,6	77,6
DEET	100	40,0	40,0	26,7	26,7	6,0	0
	400	93,3	86,7 <sup>f</sup>	73,3	46,7	40,0	13,3
	800	100,0	100,0	93,3	66,7	60,0	66,7

Legenda: OECN – Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*; OECW - Óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*; OECF - Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*; OECM - Óleo essencial de *Cymbopogon martinii*;

Esses resultados sugerem que os OE's oriundos de plantas do gênero *Cymbopogon* podem desempenhar um papel importante na repelência da pulga *C. felis felis*, assim como a forma isolada do constituinte majoritário geraniol.

## 5. CONCLUSÃO

Concluímos que os óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*, e o constituinte geraniol apresentaram eficácia inseticida frente a *C. felis felis* em todos os estágios do seu ciclo evolutivo (ovo, larva, pupa e adultos).

O geraniol e os óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii* também apresentaram atividade repelente frente a adultos de *C. felis felis* e foram capazes de inibir o desenvolvimento dessa subespécie de pulga.

O óleo essencial de *C. martinii* e o geraniol apresentaram persistência da atividade inseticida frente a adultos de *C. felis felis* por até 26 dias de experimentação, já o óleo essencial de *C. winterianus* apresentou atividade residual durante 20 dias, seguidos dos óleos essenciais de *C. flexuosus* e *C. nardus*, que persistiram por 19 dias.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Analisando os dados obtidos neste estudo, foi possível observar que o geraniol apresentou a maior atividade inseticida frente a *C. felis felis* no estágio adulto e nos estágios imaturos de ovo e pupa, como também apresentou a melhor eficácia na inibição do ciclo biológico desse inseto, quando comparado aos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii*.

O óleo essencial de *C. martinii*, destacou-se por apresentar uma maior atividade inseticida frente ao estágio de larva da pulga *C. felis felis* quando comparado ao geraniol e aos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*. Esse óleo essencial também apresentou atividade repelente mais prolongada na maior concentração avaliada, quando comparado aos demais compostos utilizados na experimentação.

O óleo essencial de *C. martinii* e o geraniol também foram os compostos que apresentaram eficácia residual mais prolongada, mesmo sendo utilizados em menores concentrações, quando comparados aos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*.

Acredita-se que o presente estudo contribuirá para o meio científico, podendo ser útil na realização de outras pesquisas visando o desenvolvimento de novas formulações à base de produtos naturais, que sejam relativamente mais seguras e ecologicamente corretas, servindo como uma alternativa em potencial aos antiparasitários sintéticos para o controle da pulga *C. felis felis*. Além disso, outros ensaios avaliando o sinergismo entre os OEs de *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus* e *C. martinii* podem ser realizados a partir do presente estudo, objetivando potencializar a ação inseticida, repelente e na interrupção do ciclo biológico para o combate de *C. felis felis*.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. et al. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. econ. Entomol.**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ADAM, E. I. Y. **Bioassay of Leaf Extracts of Sweet Basil (*Ocimum basilicum L.*), Wild Thyme (*Coleus forskohlii Briq.*), Kafure (*Eucalyptus camaldulensis Dehnh.*) and Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus Steud.*) as Anopheles Mosquito Repellents**. 2020. Tese (Doutorado em Science in Pesticides and Toxicology) - Faculty of Agricultural Sciences, University of Gezira, 2020.
- ADAMS, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. **Carol. Stream.**, v. 16, p. 65-120, 2005.
- AGUERA, R. G. et al. Monitorização biológica de viticultores expostos a inseticidas inibidores da colinesterase em Marialva-PR. **SaBios-Rev. Saúde Biol.**, v. 15, n. 1, p. 25-35, 2020.
- AJITH, K. K. et al. Comparative impact of coumaphos, amitraz and plant extract of Ageratum conyzoides on the oogenesis of *Rhipicephalus microplus*. **Ticks Tick-Borne Dis.**, v. 10, p. 1085-1095, 2019.
- AKHILA, A. Chemistry and biogenesis of essential oil from the genus Cymbopogon. In: AKHILA, A. **Essential Oil-Bearing Grasses: The Genus Cymbopogon**. Flórida: Flórida, 2010. p. 25-106.
- ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C. Agentes antinematódeos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 543-547.
- ALMEIDA, R. A. et al. Differential local genetic adaptation to pesticide use in organic and conventional agriculture in an aquatic non-target species. **Proc. R. Soc. B**, v. 288, n. 1963, p. 20211903, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1903>. Acesso em: 10 nov. 2021.
- AMBRÓSIO, C. E et al. Imunoterapia no tratamento da dermatite alérgica à saliva da pulga (DASP) em cães-Revisão de literatura. **Rev. Educ. Continuada Dermatol. e Alergol. Vet.**, v. 3, n. 11, p. 384-388, 2014.
- ANADON, A.; MARTINEZ-LARRANAGA, M. R.; MARTINEZ, M. A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. **Vet. J.**, v. 182, p. 7-20, 2009.
- ANADÓN, A. et al. Neurotoxicity of Neonicotinoids. **Adv. Neurotoxicol.**, v. 4, p. 167-207, 2020.
- ANDERSON, J. C.; DUBETZ, C.; PALACE, V. P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. **Sci. Total Environ.**, v. 505, p. 409–422, 2015.  
doi:10.1016/j.scitotenv.2014.09.090.

ANDRADE, S. F. Terapêutica do sistema Nervoso. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 422-425.

ANDREI, P.; DEL COMUNE, A. P. Aromaterapia e suas aplicações. **Centro Universitário São Camilo**, v. 11, n. 4, p. 57-68, 2005.

ANSARI, M. A. et al. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresour. technol.**, v. 71, n. 3, p. 267-271, 2000.

ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K. Repellent action of *Cymbopogon martinii martinii* Stapf var. sofia oil against mosquitoes. **Indian j. malarial.**, v. 31, n. 3, p. 95-102, 1994.

ARAÚJO, W. L. **Toxicidade de neonicotinoides sobre abelhas (*Apis mellifera*)**. 2015. 40f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, 2015.

ARPIWI, N. L.; MUKSIN, I. K.; KARTINI, N. L. Essential oil from *Cymbopogon nardus* and repellent activity against *Aedes aegypti*. **Biodiversitas J. Biol. Divers.**, v. 21, n. 8, 2020. Doi:<https://doi.org/10.13057/biodiv/d210857>.

AVOSEH, O. et al. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7438–7453, 2015.

AZEVEDO, T. R. C. **Atividade do Neonicotinoide Dinotefuran sobre Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2007. 78 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2007.

BAILEY, J. et al. Contact and oral toxicity to honey bees (*Apis mellifera*) of agents registered for use for sweet corn insect control in Ontario, Canada. **Apidologie**, v. 36, n. 4, p. 623-633, 2005.

BAKER, C. et al. Efficacy of a novel topical combination of fipronil,(S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel against adult and immature stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis*) on cats. **Vet. parasitol.**, v. 202, n. 1-2, p. 54-58, 2014.

BARBOSA, L. C. S. Morfoanatomia e fitoquímica de *Cymbopogon densiflorus* (Steud.) Stapf e *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Poaceae: Panicoideae). **Rev. Biol. Neotropical/J. Neotropical Biol.**, v. 4, n. 1, p. 80-81, 2007.

BARNARD, D. R.; XUE, R.-D. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). **J. med. Entomol.**, v. 41, n. 4, p. 726-730, 2004.

BATIKIAN, C. M. et al. Temporal pattern in levels of the neonicotinoid insecticide, imidacloprid, in an urban stream. **Chemosphere**, v. 223, p. 83–90, 2019. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.01.165.

BATISTA, L. C. S. O. et al. In vitro efficacy of essential oils and extracts of *Schinus molle* L. against *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v. 143, n. 5, p. 627-638, 2016.

BATISTA, L. C. S. O. *et al.* Eficácia in vitro de uma formulação aerossol de piriproxifen e cifultrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 34, n. 1, p. 41 - 45, 2012.

BEAVERS, C. T. *et al.* Pesticide-induced quadriplegia in a 55-year-old woman. **Am. J. Forensic Med. Pathol.**, v. 35, n. 4, p. 239-241, 2014.

BENELLI, G. *et al.* Old ingredients for a new recipe? Neem cake, a low-cost botanical by-product in the fight against mosquito-borne diseases. **Parasitol. Res.**, v. 114, n. 2, p. 391-397, 2015.

BENETI, S. C. *et al.* Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation. **J. Food Eng.**, v. 102, n. 4, p. 348–354, 2011.

BERTERO, A. *et al.* Types of pesticides involved in domestic and wild animal poisoning in Italy. **Sci. Total Environ.**, v. 707, p. 136129, 2020.

BEUGNET, F. *et al.* Occurrence of Dipylidium caninum in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. **Vet. parasitol.**, v. 205, n. 1-2, p. 300-306, 2014.

BEUGNET, F.; LIEBENBERG, J.; HALOS, L. Comparative efficacy of two oral treatments for dogs containing either afoxolaner or fluralaner against *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* and *Dermacentor reticulatus*. **Vet. parasitol.**, v. 209, n. 1-2, p. 142-145, 2015.

BHATT, L.; KALE, R. D. Lemongrass (*Cymbopogon Flexuosus* Steud.) wats treated textile: A control measure against vector-borne diseases. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. e02842, 2019.

BILLERBECK, V. G. *et al.* Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. **Can. j. microbiol.**, v.47, n.1, p.9-17, 2001.

BITAM, I. *et al.* Fleas and flea-borne diseases. **Int. j. infect. dis.**, v. 14, n. 8, p. e667-e676, 2010.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASCARENHAS, A. G.; FACCINI, L. H. Mecanismo de infecção do fungo *Metarrhizium anisopliae* no carapato *Boophilus microplus* em condições experimentais. **Cienc. Rural**, v. 29, n. 2, p. 351-354, 1999.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quím. nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BLACKBURN, B. L.; LINDSAY, D. S. Ectoparasiticidas. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003. p. 851-870.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment and control of flea and tick infestations. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v. 39, n. 6, p. 1173-1200, 2009.

BLAGBURN, B. L. *et al.* Effects of orally administered spinosad (Comfortis®) in dogs on adult and immature stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Vet. parasitol.**, v. 168, n. 3-4, p. 312-317, 2010.

BORGES, A. D. C. *et al.* avaliação da composição química e atividade larvicida do óleo essencial de cymbopogon nardus no controle de aedes aegypti na Amazônia sul-occidental. **Holos**, v. 5, p. 1-13, 2021.

BRANDÃO, L. P. Pulicidas empregados na medicina de pequenos animais. **Rev. bras. parasitol. vet.**, v. 13, p. 107, 2004.

BRATTSTEN, L.B. Cytochrome P-450 involvement in the interactions between plant terpenes and insect herbivores. In: DUNKEL, F. V.; SEARS, L. J. Fumigant properties of physical preparatios from mountain big sagebrush, Artemisia tridentata Nutt. Ssp. vaseyana (Rydb.) bettle for stored grain insects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.

BREITSCHWERDT, E. B. *et al.* Bartonella sp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction. **J. clin. Microbiol.**, v. 46, n. 9, p. 2856-2861, 2008.

BRICARELLO, P. A. *et al.* Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **J. Asia-Pacific Entomol.**, v. 24, n. 3, p. 724-730, 2021.

BROWN, A. W. A.; PAL, R.; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Insecticide resistance in arthropods*. 2. ed., 1971: 1-491.

BUENO, V. S.; ANDRADE, C. F. S. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 12, p. 215-219, 2010.

BURGIO, F.; MEYER, L.; ARMSTRONG, R. A comparative laboratory trial evaluating the immediate efficacy of fluralaner, afoxolaner, sarolaner and imidacloprid+ permethrin against adult *Rhipicephalus sanguineus* (*sensu lato*) ticks attached to dogs. **Parasit. vectors**, v. 9, n. 1, p. 626, 2016. doi: 10.1186/s13071-016-1900-z.

BUSVINE, J. R. The presente status of insecticide resistance. **Bull World Health Organ.**, v. 29, supl., p. 31-40, 1963.

CABALLERO-GALLARDO, K. *et al.* Chemical Composition and Bioactivity of Essential Oils from *Cymbopogon nardus* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Against *Uromoides dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 3, p. 547-560, 2021.

CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. E. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia origanoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. **J. Stored Prod. Res.**, v. 50, p. 62-65, 2012.

CADIERGUES, M. C. *et al.* Efficacy of an adulticide used alone or in combination with an insect growth regulator for flea infestations of dogs housed in simulated home environments. **Am. J. vet. Res.**, v. 60, n. 9, p. 1122-1125, 1999.

CAMPOS, D. R. *et al.* Efficacy of oral sarolaner against *Lynxacarus radovskyi* in naturally infested cats. **Vet. Dermatol.**, v. 31, n. 5, p. 355-e92, 2020.

CARLOTTI, D. N.; JACOBS, D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Vet. Dermatol.**, v.11, n. 2, p.83-98, 2000.

CASTILLO-MORALES, R. M. *et al.* Impact of Cymbopogon flexuosus (Poaceae) essential oil and primary components on the eclosion and larval development of Aedes aegypti. **Sci. rep.**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

CASTRO, H. F. *et al.* Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Quím. Nova**, v. 27, p. 146-156, 2004

CASTRO, H. G. *et al.* Avaliação do teor e composição do óleo essencial de Cymbopogon nardus (L.) em diferentes épocas de colheita. **Rev. Ciênc. Agronômica**, v. 41, p. 308-314, 2010.

CASTRO, H. G. *et al.* Crescimento, teor e composição do óleo essencial de Cymbopogon nardus (L.). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.

CASTRO, J. S. M.; MOUTINHO, F. F. B. Relatos de intoxicação humana e animal com produtos químicos de uso veterinário em Niteroi, RJ. **Vigilância Sanitária em Debate: Soc. Ciênc. Tecnol.**, v. 9, n. 1, p. 99-105, 2021.

CAVALIERE, M. J. *et al.* Organophosphate myotoxicity. **Rev. Saúde Públ.**, v. 30, n. 3, p. 267-272, 1996.

CHANDLER, G. T. *et al.* Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility and reproduction: a rapid life cycle assay in 96-well microplate format. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 23, n. 1, p. 117-124, 2004

CHOOLUCK, K. *et al.* Repellency Effects of Essential Oils of Cymbopogon winterianus, Eucalyptus globulus, Citrus hystrix and their major Constituents against Adult German Cockroach (*Blattella germanica* Linnaeus (Blattaria: Blattellidae)). **Jordan J. Biol. Sci. Short Communic.**, v. 12, n. 4, p. 519-523, 2019.

COHEN, M. Environmental toxins and health: the health impact of pesticides. **Aust. fam. physician.**, v. 36, n. 12, p. 1002-1004, 2007.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochem. Physiol.**, v. 46, n. 1, p. 47-54, 1993.

COLES, T. B.; DRYDEN, M. W. Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. **Parasit. vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2014.

COLES, T. B.; DRYDEN, M. W. Resistência de pulgas e carrapatos a inseticidas/acaricidas em infestações de cães e gatos. **Parasit. vectors**, v. 7, n. 8, p. 44-53, 2014.

CONCEIÇÃO, C. L. *et al.* Atividade pulicida comparativo in vitro do óleo essencial de cinnamomum cassia e do cinamaldeído contra Ctenocephalides felis. **Arch. Vet. Sci.**, v. 15, n. 5, 2020a.

CONCEIÇÃO, C. L. *et al.* Evaluation of Insecticidal Activity of Thyme, Oregano, and Cassia Volatile Oils on Cat Flea. **Rev. Bras. Farmacogn.**, p.1-6, 2020b.

COOP, R. L. *et al.* Ectoparasites: recent advances in control, **Trends Parasitol.**, v.18, n. 2, p. 55-56, 2002.

CORREIA, T. R. *et al.* Ciclo biológico de Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) a partir de diferentes dietas artificiais. **Rev. Bras. Zoociências**, v. 5, n. 2, p. 153-160, 2003.

COSIMI, S. *et al.* Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). **J. Stored Prod. Res.**, v. 45, n. 2, p. 125-132, 2009.

COUTINHO, C. F. B. *et al.* Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: R. ecotoxicol. e meio ambiente**, v. 15, 2005. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v15i0.4469>.

COX, C. Fipronil. **J. Pestic. Reform**, v. 25, p.10-15, 2005.

CUTOLO, A. A. *et al.* Efficacy of two endectoparasiticide products combining fipronil and (S)-methoprene or esafoxolaner with eprinomectin and praziquantel against fleas and intestinal helminths in cats naturally infested in Brazil. **Parasite**, v. 29, 2022. doi: 10.1051/parasita/2022012.

D'ÁVILA, J. V. *et al.* Essential oil production of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) under organic compost containing sewage sludge. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 20, p. 811-816, 2016.

DE ANDRADE, L. R. M. *et al.* Polymeric Nanorepellent Systems Containing Geraniol and Icaridin Aimed at Repelling *Aedes aegypti*. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 23, n. 15, p. 8317, 2022.

DE MONTAIGU, C. T.; GOULSON, D. Identifying agricultural pesticides that may pose a risk for birds. **PeerJ**, v. 8, p. e9526, 2020. doi: 10.7717/peerj.9526.

DE OLIVEIRA, P. R. *et al.* Fluazuron-induced morphophysiological changes in the cuticle formation and midgut of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) nymphs. **Parasitol. Res.**, v. 112, n. 1, p. 45-58, 2013.

DE OLIVEIRA, P. R. *et al.* Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of *Rhipicephalus sanguineus* nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): Determination of the LD95 and LD50. **Exp. Parasitol.**, v. 131, n. 1, p. 35-39, 2012.

DE PAULA, J. P.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; PAUMGARTTEN, F. JR. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 88, n. 2-3, p. 253-260, 2003.

DE SOUZA, E. R. L. *et al.* Propriedades farmacológicas do Sesquiterpeno α-Bisabolol: uma breve revisão. **Arch. Health Investig.**, v. 10, n. 1, p. 18-23, 2021.

DE TOLEDO, L. G. *et al.* Essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle: A strategy to combat fungal infections caused by *Candida* species. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, n. 8, p. 1252, 2016.

DELAYTE, E. H. *et al.* Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicidose canina generalizada. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, p. 31-38, 2006.

DELETRE, E. *et al.* Repellent, irritant and toxic effects of 20 plant extracts on adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* mosquito. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e82103, 2013.

DEVI, M. A. *et al.* Toxicity, repellency and chemical composition of essential oils from *Cymbopogon* species against red flour beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Consum. Prot. Food Saf.**, v. 15, n. 2, p. 181-191, 2020.

DIAZ, A. *et al.* Prepubertal gynecomastia and chronic lavender exposure: report of three cases. **J. Pediatr. Endocrinol. Metab.**, v. 29, n. 1, p. 103-107, 2016.

DIMETRY, N. Z.; ABD EL-SALAM, A. M. E.; ELHAWARY, F. M.A. Importance of plant extract formulations in managing different pests attacking beans in new reclaimed area and under storage conditions. **Arch. Phytopathol. Plant. Prot.**, v. 43, p. 700-711, 2010.

DOBBLER, G.; PFEFFER, M. Fleas as parasites of the family Canidae. **Parasit. Vectors**, v. 4, n. 139, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-139.

DONAHUE, W. A. *et al.* Pyriproxyfen Effects on Newly Engorged Larvae and Nymphs of the Lone Star Tick (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol.**, v. 34, n. 2, p. 206-211, 1997.

DOS SANTOS, J. V. B. *et al.* In vitro activity of essential oils against adult and immature stages of *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v. 147, n. 3, p. 340-347, 2020.

DOS SANTOS, R. B. V. *et al.* Evaluation of *Cymbopogon flexuosus* and *Alpinia zerumbet* essential oils as biopesticides against *Callosobruchus maculatus*. **J. Plant Dis. Protect.**, v. 129, n. 1, p. 125-136, 2022.

DOUMBIA, M. *et al.* Toxicity of *Cymbopogon nardus* (Glumales: Poaceae) against four stored food products insect pests. **Int. J. Farm. Allied Sci.**, v. 3, n. 8, p. 903-909, 2014.

DROBATZ, K. J. Clinical approach to toxicities. **Vet. Clin. North Am. Small Animal Pract.**, v. 24, n. 6, p. 1123-1138, 1994.

DRYDEN, M. W. *et al.* Avaliação do fluralaner tópico ou selamectina tópica para o controle de pulgas em gatos naturalmente infestados em residências na Flórida Central Ocidental, EUA. **Parasit. vectors**, v. 11, p. 422, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2995-1>. Acesso em: 10 nov. 2021.

DRYDEN, M. W. *et al.* Efficacy of a topically applied formulation of metaflumizone on cats against the adult cat flea, flea egg production and hatch, and adult flea emergence. **Vet. parasitol.**, v. 150, n. 3, p. 263-267, 2007.

DRYDEN, M. W. *et al.* Efficacy of dinotefuran-pyriproxyfen, dinotefuran-pyriproxyfen-permethrin and fipronil-(S)-methoprene topical spot-on formulations to control flea populations in naturally infested pets and private residences in Tampa, FL. **Vet. parasitol.**, v. 182, n. 2-4, p. 281-286, 2011.

DRYDEN, M. W. *et al.* Efficacy of indoxacarb applied to cats against the adult cat flea, Ctenocephalides felis, flea eggs and adult flea emergence. **Parasit. vectors**, v. 6, n. 1, p. 126, 2013a. doi: 10.1186/1756-3305-6-126.

DRYDEN, M. W. *et al.* Efficacy of selamectin, spinosad, and spinosad/milbemycin oxime against the KS1 Ctenocephalides felis flea strain infesting dogs. **Parasit. vectors**, v. 6, n. 1, p. 1-5, 2013b.

DRYDEN, M. W.; NEAL, J. J.; BENNETT, G. W. Concepts of Flea Control. **Companion Animal Pract.**, v. 19, n. 4-5, p. 11-20, 1989.

DRYDEN, M. W.; RUST, M. K. The cat flea: biology, ecology and control. **Vet. parasitol.**, v. 52, n. 1, p. 1-19, 1994.

DUKE, J. A. **CRC handbook of alternative cash crops**. Flórida: CRC Press, 1993.

ECKER, W. HEMSARTH, L. **Animal parasite-control method using insect growth regulators**. U.S. Patent n. 9,433,615, 6 set. 2016.

EDDLESTON, M. Poisoning by pesticides. **Medicine**, v. 48, n. 3, p. 214-217, 2020.

EDEN BOTANICALS. **Cymbopogon martinii Roxb.** Petaluma, 2022. Disponível em: <https://www.edenbotanicals.com/palmarosa-nepal.html>. Acesso em: 15 de julho de 2022.

EDEN, W. T. *et al.* The mosquito repellent activity of the active component of air freshener gel from Java Citronella oil (*Cymbopogon winterianus*). **J. parasitol. Res.**, v. 2020, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1155/2020/9053741>.

EKONATIVA. **Cymbopogon winterianus**. Maceió, 2022. Disponível em: [https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fekonativa.com.br%2Fwp-content%2Fuploads%2F2021%2F09%2Fcitronela1.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fekonativa.com.br%2Fproduto%2Foleo-essencial-de-citronela-cymbopogon-winterianus%2F&tbnid=XMP5Atrdm\\_jl5M&vet=12](https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fekonativa.com.br%2Fwp-content%2Fuploads%2F2021%2F09%2Fcitronela1.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fekonativa.com.br%2Fproduto%2Foleo-essencial-de-citronela-cymbopogon-winterianus%2F&tbnid=XMP5Atrdm_jl5M&vet=12). Acesso em: 15 de julho de 2022.

ELLIOTT, M.; JANES, N. F. Synthetic pyrethroids—a new class of insecticide. **Chem. Soc. Rev.**, v. 7, n. 4, p. 473-505, 1978.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Med. Vet. Entomol.**, v.28, p.233–243, 2014.

EL-WAKEIL, N. E.; GAAFAR, N.; VIDAL, S. Side effect of some neem products on natural enemies of *Helicoverpa*, *Trichogramma* spp. and *Chrysoperla carnea*. **Arch. Phytopathol. Plant Prot.**, v. 39, p. 445–455, 2006.

ESKENAZI, B.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. **Environ. Health Perspect.**, v. 107, Suppl, p. 409–419, 1999. doi:10.1289/ehp.99107s3409.

FERNANDES, A. C. A.; SALZO, P. S.; DE PAIVA FERNANDES, B. Avaliação do padrão lesional de cães das raças lhasa apso, yorkshire terrier, shih tzu e pug acometidos por dermatite atópica. **Rev. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec. CRMV-SP**, v. 19, n. 1, 2021. doi: <https://doi.org/10.36440/recmvz.v20i1.38053>.

FERNANDES, D. R. **Intoxicações em Animais de Companhia por Inseticidas e Rodenticidas**: Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia Comunitária e Investigação. 2014. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2014.

FERREIRA, F. M. *et al.* Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum* hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. **Med. Vet. Entomol.**, v. 32, p. 41–47, 2017.

FERREIRA, T. P. **Determinação de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais da bacia do rio Guandu por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massas**. 2022. 79 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2022.

FOURIE, L. J.; KOK, D. J.; PETER, R. J. Control of immature stages of the flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in carpets exposed to cats treated with imidacloprid. **J. South African Vet. Assoc.**, v. 71, n. 4, p. 219-221, 2000.

FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Comparative activity in dogs of deltamethrin-and diazinon-impregnated collars against *Ctenocephalides felis*. **Am. J. Vet. Res.**, v. 59, n. 1, p. 59-60, 1998.

FREITAS, J. P. *et al.* Eficácia e efeito residual dos óleos essenciais de *Illicium verum* (anis-estrelado) e *Pelargonium graveolens* (gerânio rosa) em pulgas de gato *Ctenocephalides felis felis*. **Rev. bras. parasitol. vet.**, v. 30, n. 4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021088>. Acesso em: 24 fev. 2022.

FREITAS, K. T. S.; BARROS, J. B.; DE CARVALHO, A. V. Controle e prevenção de pulgas em cães e gatos: análise das ações dos tutores. **Agriculturae**, v. 1, n. 1, p. 13-20, 2019.

GANJEWALA, D.; GUPTA, A. K. Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats essential oil: overview and biological activities. **Recent Progress Med. Plants**, v. 37, p. 235-271, 2013.

GARCEZ, W. S. *et al.* Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quím.**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GASSEL, M. *et al.* The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid-and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. **Insect Biochem. Mole. Biol.**, v. 45, p. 111-124, 2014.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B.; BIASI, L. A. Diagnóstico dos procedimentos de colheita e pós-colheita do capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) no Estado do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 9, n. 3, p. 70-75, 2007.

GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, V. H. *et al.* Flea (siphonaptera: pulicidae) prevalence and first record of *ctenocephalides canis* (curtis, 1826) in domestic dogs in north-central Mexico. **J. Dairy Vet. Anim. Res.**, v. 7, n. 4, p. 146-148, 2018.

GOSWAMI, R. *et al.* Effect of eucalyptus oil against tick infestation in cattle. **Pharma Innovat. J.**, v. 11, n. 6, p. 804-807, 2022.

GOVERE, J. *et al.* Local plants as repellents against *Anopheles arabiensis*, in Mpumalanga Province, South Africa. **Central Afr. J. Med.**, v. 46, n. 8, p. 213-216, 2000.

GRACE, S. F. Toxicoses. In: SCHMELTZER, L. E.; NORSWORTHY, G. D. **Nurshing the Feline Patient**. Texas: Wiley-Blackwell, 2012. p. 208-211.

GRAF, J. F. The role of Insect Growth Regulators in Arthropod Control. **Parasitology Today**, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.

GRAF, J. F. R. *et al.* Tick control an industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 427-442, 2004.

GRENIER, S.; GRENIER, A. M. Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. **Ann. Appl. Biol.**, v.122, p. 369-403, 1993.

GÜNDDEL, S. S. *et al.* Nanoemulsions containing *Cymbopogon flexuosus* essential oil: Development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities. **Microb. Pathog.**, v. 118, p. 268-276, 2018.

GUPTA, A. K. *et al.* Phytoremediation using aromatic plants: a sustainable approach for remediation of heavy metals polluted sites. 2013.

GUPTA, R. K.; RUTLEDGE, L. C. Role of repellents in vector control and disease prevention. **Am. J. trop. med. Hyg.**, v. 50, n. 6\_Suppl, p. 82-86, 1994.

GUSMÃO, N. M. S. *et al.* Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). **J. Stored Prod. Res.**, v. 54, p. 41-47, 2013.

HADIS, M. *et al.* Field trials on the repellent activity of four plant products against mainly *Mansonia* population in western Ethiopia. **Phytotherapy research**, v. 17, n. 3, p. 202-205, 2003.

HALLIWELL, R. E.; PRESTON, J. F.; NESBITT, J. G. Aspects of the immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 17, n. 1-4, p. 483-494, 1987.

HALOS, L. *et al.* Flea control failure? Myths and realities. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 5, p. 228-233, May 2014.

HANAA, A. R. M. *et al.* Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as affected by drying methods. **Ann. Agricult. Sci.**, v. 57, n. 2, p. 113-116, 2012.

HASSAAN, M. A.; EL NEMR, A. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. **Egyptian J. Aquatic Res.**, v. 46, n. 3, p. 207-220, 2020.

HERNANDEZ-LAMBRAÑO, R. *et al.* Essential oils from plants of the genus *Cymbopogon* as natural insecticides to control stored product pests. **J. Stored Prod. Res.**, v. 62, p. 81-83, 2015.

HERNÁNDEZ-LAMBRAÑO, R.; CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. Toxicity and antifeedant activity of essential oils from three aromatic plants grown in Colombia against Euprosterna elaeasa and Acharia fusca (Lepidoptera: Limacodidae). **Asian Pac. J. Trop. Biomed.**, v. 4, n. 9, p. 695-700, 2014.

HILTON, M. J.; JARVIS, T. D.; RICKETTS, D. C. The degradation rate of thiamethoxam in European field studies. **Pest. Manag. Sci.**, v. 72, n. 2, p. 388–397, 2016.

HOGSETTE, J. A. Management of ectoparasites with biological control. **Int. J. Parasitol.**, v. 29, n. 1, p. 147-151, 1999.

HOLZMER, S. *et al.* Efficacy of a novel formulation of metaflumizone for the control of fleas (*Ctenocephalides felis*) on cats. **Vet. parasitol.**, v. 150, n. 3, p. 219-224, 2007.

HOPKINS, T. J. *et al.* Efficacy of imidacloprid to remove and prevent *Ctenocephalides felis* infestations on dogs and cats. **Aust. Vet. Practit.**, v. 26, n. 3, p. 150-153, 1996.

HOVDA, L. R.; HOOSEN, S. B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. **Vet. Clin. Small Anim. Pract.**, v. 32, n. 2, p. 455-467, 2002.

INDIAMART. **Cymbopogon Nardus Citronella**. Noida, 2022. Disponível em: <https://www.indiamart.com/proddetail/cymbopogon-nardus-citronella-22752053048.html>. Acesso em: 15 de julho de 2022.

INDIAMART. **Horticultural Impex Cymbopogon Flexuosus**. Noida, 2022. <https://www.indiamart.com/proddetail/cymbopogon-flexuosus-10181601288.html>. Acesso em: 15 de julho de 2022.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Ann. Rev. Entomol.**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JACOBS, D. E.; HUTCHINSON, M. J.; KRIEGER, K. J. Duration of activity of imidacloprid, a novel adulticide for flea control, against *Ctenocephalies felis* on cats. **Vet. Rec.**, v. 140, n. 10, p. 259-260, 1997.

JANNATAN, R.; RAHAYU, R. Fumigant toxicity and repellency of citronella grass essential oil (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) to German cockroaches (*Blattella germanica* L.). **Eur. J. Biol. Res.**, v. 11, n. 3, p. 267-273, 2021.

JESCHKE, P. *et al.* 2010. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids (dagger). **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 7, p. 2897–2908, 2011.

JESCHKE, P.; NAUEN, R. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. **Pest. Manag. Sci.**, v. 64, p.1084–1098, 2008.

KAKARAPARTHI, P. S. *et al.* Variation in the essential oil content and composition of Citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. **Ind. Crops Produc.**, v. 61, p. 240-248, 2014.

KAMRANI, A. *et al.* The prevalence of Bartonella, hemoplasma, and Rickettsia felis infections in domestic cats and in cat fleas in Ontario. **Can. J. Vet. Res.**, v. 72, n. 5, p. 411-419, 2008.

KARUNAMOORTHI, K.; ILANGO, K.; ENDALE, A. Ethnobotanical survey of knowledge and usage custom of traditional insect/mosquito repellent plants among the Ethiopian Oromo ethnic group. **J. Ethnopharmacol.**, v. 125, n. 2, p. 224-229, 2009.

KETOH, G. K.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). **J. Stored Prod. Res.**, v. 41, n. 4, p. 363-371, 2005.

KHIDKHAN, K. *et al.* Interspecies differences in cytochrome P450-mediated metabolism of neonicotinoids among cats, dogs, rats, and humans. **Comp. biochem. physiol., C. Toxicol. pharmacol.**, v. 239, p. 108898, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108898>.

KIRST, H. A. *et al.* Evaluation and development of spinosyns to control ectoparasites on cattle and sheep. **Curr. Top. Med. Chem.**, v. 2, n. 7, p. 675-699, 2002.

KLOCKE, J. A.; DARLINGTON, M. V.; BALANDRIN, M. F. 1,8 cineole (eucalyptol), a mosquito feed ingand oviposition al repellent from volatil eoil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). **J. Chem. Ecol.**, v.13, p.2131-2141, 1987.

KOLE, R. K.; BANERJEE, H.; BHATTACHARYYA, A. Monitoring of pesticide residues in farm gate vegetable samples in West Bengal. **Pest. Res. J.**, v. 14, n. 1, p. 77-82, 2002.

KRASNOV, B. R. **Functional and Evolutionary Ecology of Fleas**: a model for ecological parasitology. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. 593 p,

KUMAR, R. Efficacy of *Cymbopogon martinii* oil and geraniol for control of post harvest deterioration against four stored grain insects in stored cereal and pulse. *In: THE 2006 ESA ANNUAL MEETING*, December 10-13, 2006. Disponível em: [https://esa.confex.com/esa/2006/techprogram/paper\\_25056.htm](https://esa.confex.com/esa/2006/techprogram/paper_25056.htm). Acesso em: 23 out. 2021.

KUMAR, R.; SRIVASTAVA, M.; DUBEY, N. K. Evaluation of *Cymbopogon martinii* oil extract for control of postharvest insect deterioration in cereals and legumes. **J. food protect.**, v. 70, n. 1, p. 172-178, 2007.

KUMARAN, A. M. *et al.* Geraniol, the putative anthelmintic principle of *Cymbopogon martinii*. **Phytother Res.**, v. 17, n. 8, p. 957, 2003. doi: 10.1002/ptr.1267.

KUNKLE, B. N. *et al.* Assessment of the onset of action of afoxolaner against existing adult flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **Vet. parasitol.**, v. 201, n. 3-4, p. 204-206, 2014.

LAMBERT, M. M. *et al.* Activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and its main constituent eugenol in the inhibition of the development of *Ctenocephalides felis felis* and the control of adults. **Vet. parasitol.**, v. 282, p. 109126, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109126>.

LAPIED, B.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insect neuronal sodium channels. **Br. J. pharmacol.**, v. 132, n. 2, p. 587-595, 2001.

LEE, S. E.; JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. Salivary antigens of the cat flea, Ctenocephalides felis felis. **Paras. Immunol.**, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1997.

LEMMENS-GRUBER, R. Adverse Effects and Intoxication with Essential Oils. In: BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. (ed.). **Handbook of Essential Oils**. Flórida: CRC Press, 2020. p. 517-541.

LI, M. *et al.* Activity of terpenes derived from essential oils against Sarcoptes scabiei eggs. **Parasit. vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-6, 2021.

LIMA, E. A. S. *et al.* Avaliação do potencial inseticida do óleo essencial de citrus paradisi no controle dos estágios imaturos e adultos de ctenocephalides felis. **Arch. Vet. Sci.**, v. 15, n. 5, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v15i5.77064>

LIMA, J. K. A. *et al.* Biotoxicity of some plant essential oils against the termite Nasutitermes corniger (Isoptera: Termitidae). **Industr. Crops Prod.**, v. 47, p. 246-251, 2013.

LINARDI, P. M. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1, p. 607-617, 2011.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: Editora MZUSP/FAPESP, 2000. 291p.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. Sifonápteros do Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 3, 2003. Doi:<https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000300026>

LINARDI, P. M.; SANTOS, J. L. C. Ctenocephalides felis felis vs. Ctenocephalides canis (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 21, p. 345-354, 2012.

LOAYZA, I. *et al.* Essential oils of Baccharis salicifolia, B. latifolia and B. dracunculifolia. **Phytochem.**, v. 38, n. 2, p. 381-389, 1995.

LODHIA, M. H.; BHATT, K. R.; THAKER, V. S. Antibacterial activity of essential oils from palmarosa, evening primrose, lavender and tuberose. **Indian J. Pharm. Sci.**, v. 71, n. 2, p. 134, 2009.

LU, C. *et al.* Assessing children's dietary pesticide exposure: Direct measurement of pesticide residues in 24-hr duplicate food samples. **Environ. health perspect.**, v. 118, n. 11, p. 1625-1630, 2010.

MADRESEH-GHAHFAROKHI, S. *et al.* Zingiber officinalis and Eucalyptus globulus, potent lethal repellent agents against Rhinocerous bursa, probable carrier for zoonosis. **J. Arthropod-Borne Dis.**, v. 13, n. 2, p. 214-223, 2019.

MAHALWAL, V. S.; ALI, M. Volatile constituents of Cymbopogon nardus (Linn.) Rendle. **Flavor Fragrance J.**, v. 18, n. 1, p. 73-76, 2003.

MALLAVARAPU, G. R. *et al.* Volatile constituents of the essential oils of the seeds and the herb of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. motia Burk.). **Flavour fragrance j.**, v. 13, n. 3, p. 167-169, 1998.

MANH, H. D. *et al.* The Mosquito larvicidal activity of essential oils from *Cymbopogon* and *Eucalyptus* Species in Vietnam. **Insects**, v. 11, n. 2, p. 128, 2020. doi: 10.3390/insects11020128.

MARTÍ, S. Farmacologia e Terapêutica Pediátrica. In: PRATS, A. **Farmacologia Terapêutica Pediátrica Canina e Felina**. São Paulo: Interbook. 2005. p. 275-279.

MARTINS, J. F. S. *et al.* Inseticida regulador de crescimento no controle do gorgulho-aquático-do-arroz *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **R. Bras. Agrociência Pelotas**, v. 14, n. 3-4, p. 87-95, 2008.

MARTINS, R. M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) en la garrapata *Boophilus microplus*. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 8, n. 2, p. 71-78, 2006.

MASON, K. V.; RING, J.; DUGGAN, J. Fenthion for flea control on dogs under field conditions: dose response efficacy studies and effect on cholinesterase activity. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 20, n. 2, p. 591-595, 1984

MATSUDA, K. *et al.* Neonicotinoids: Insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 22, n. 11, p. 573–580, 2001.

MAWELA, K. G. *et al.* Repellent properties o *Rothecea glabrum* plant extracts against adults of *Rhipicephalus appendiculatus*. **BMC Vet. Res.**, v. 15, p. 122, 2019.  
Doi:<https://doi.org/10.1186/s12917-019-1853-5>

MCCANN, S. F. *et al.* The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides. **Pest Manag. Sci.**, v. 57, n. 2, p. 153-164, 2001.

MCTIER, T. L. *et al.* Efficacy of selamectin against adult flea infestations (Ctenocephalides felis felis and Ctenocephalides canis) on dogs and cats. **Vet. parasitol.**, v. 91, n. 3-4, p. 187-199, 2000a.

MCTIER, T. L. *et al.* Evaluation of the effects of selamectin against adult and immature stages of fleas (Ctenocephalides felis felis) on dogs and cats. **Vet. parasitol.**, v. 91, n. 3-4, p. 201-212, 2000b.

MEALEY, K. L. Ivermectin: macrolide antiparasitic agentes. In: PETERSON, M. **Small animal toxicology**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2006. p. 785-794.

MEDICE, R. *et al.* Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja Phakopsora pachyrhizi Syd. & P. Syd. **Ciênc. Agrotecnol.**, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO, D. R. *et al.* Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835). **Rev. bras. parasitol. vet.**, v. 16, p. 166-170, 2007.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v. 1, n. 262, p. 56-78.

MELO, M. M.; DE OLIVEIRA, N. J. F.; LAGO, L. A. Intoxicações causadas por pesticidas em cães e gatos. Parte I: Organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides. **Rev. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec. CRMV-SP**, v. 5, n. 2, p. 188-195, 2002.

MENCKE, N. *et al.* Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitol. Res.**, v. 105, n. 1, p. 185-189, 2009.

MÉNIER, K.; BEAUCOURNU, J. Taxonomic study of the genus *Ctenocephalides* Stiles & Collins, 1930 (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) by using aedeagus characters. **J. med. Entomol.**, v. 35, n. 5, p. 883-890, 1998.

MEOLA, R. *et al.* Effect of pyriproxyfen in the blood diet of cat fleas on adult survival, egg viability, and larval development. **J. med. Entomol.**, v. 37, n. 4, p. 503-506, 2000.

MEOLA, R. W.; DEAN, S. R.; BHASKARAN, G. Effects of juvenile hormone on eggs and adults of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **J. med. Entomol.**, v. 38, n. 1, p. 85-92, 2001.

MILLER, H. W.; GRIFFIN, E. C.; CAMPBELL, L. K. **Muller & Kirk's Small Animal Dermatology**. 7. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013. 938 p.

MILLER, R. J. *et al.* Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal army veterinary quarantine center Panama. **J. med. Entomol.**, v. 38, n. 2, p. 298-301, 2001.

MISHRA, P. K.; KEDIA, A.; DUBEY, N. K. Chemically characterized *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. essential oil for shelf life enhancer of herbal raw materials based on antifungal, antiaflatoxigenic, antioxidant activity, and favorable safety profile. **Plant Biosystems**, v. 150, n. 6, p. 1313-1322, 2016.

MORAIS, L. A. S; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com Atividade Inseticida. In: HALFELD-VIEIRA, B. A. *et al.* (org.). **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2017. p. 542-593.

MOTA FILHO, T. M. M. *et al.* Chemical composition of *Cymbopogon flexuosus* (Poaceae) essential oil, its insecticidal and repellency activity against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Int. J. Trop. Insect Sci.**, v. 42, p. 2701-2708, 2022.

MÜLLER, G. C. *et al.* Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. **J. Vector Ecol.**, v. 34, n. 1, p. 2-8, 2009.

MUMCUOGLU, K. Y. *et al.* Repellency of citronella for head lice: double-blind randomized trial of efficacy and safety. Israel Medical Association Journal, v. 06, n. 12, p. 756-759, 2004.

MUNDA, S.; LAL, M. *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor, a Hub for various industrial and pharmaceutical applications. In: SINGH, B. **Botanical Leads for Drug Discovery**. Singapore: Springer, 2020. p. 405-419.

NAKAHARA, K. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). **Japan Agricult. Res. Quarterly**, v. 37, n. 4, p. 249-252, 2013.

NAPOLI, E. *et al.* Development of *Acanthocheilonema reconditum* (Spirurida, Onchocercidae) in the cat flea ***Ctenocephalides felis*** (Siphonaptera, Pulicidae). **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1718-1725, 2014.

NATH, S. C. *et al.* Comparison of volatile inflorescence oils and taxonomy of certain *Cymbopogon* taxa described as *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. **Biochem. Systemat. ecol.**, v. 30, n. 2, p. 151-162, 2002.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour. technol.**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.

NOGUEIRA, R. M. B.; ANDRADE, S. F. **Manual de Toxicologia Veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2011.

NOLAN, T. J.; LOK, J. B. Macroyclic Lactones in the Treatment and Control of Parasitism in Small Companion Animals. **Curr. Pharm. Biotechnol.**, v. 13, p. 1078-1094, 2012.

NWANADE, C. F. *et al.* Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions. **Exp. appl. acarol.**, v. 81, n. 1, p. 1-35, 2020.

OBERKIRCHNER, U. *et al.* Metaflumizone–amitraz (Promeris)-associated pustular acantholytic dermatitis in 22 dogs: evidence suggests contact drug-triggered pemphigus foliaceus. **Vet. Dermatol.**, v. 22, n. 5, p. 436-448, 2011a.

OBERKIRCHNER, U. *et al.* Recognizing and treating ProMeris-triggered pemphigus foliaceus in dogs. **Vet. Med.**, v. 106, n. 6, p. 284-293, 2011b.

OGUH, C. E. *et al.* Natural pesticides (biopesticides) and uses in pest management-a critical review. **Asian J. Biotechnol. Genetic Engin.**, v. 2, n. 3, p. 1-18, 2019a.

OGUH, C. E. *et al.* Risk assessment of heavy metals level in soil and jute leaves (*Corchorus olitorius*) treated with azadirachtin neem seed solution and organochlorine. **Int. J. Environ. Agricult. Biotechnol.**, v. 4, n. 3, p. 256-266, 2019b.

OLIVEIRA, E. R. *et al.* Toxicity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and citral for *Spodoptera frugiperda*. **Ciênc. Agrotecnolo.**, v. 42, p. 408-419, 2018a.

OLIVEIRA, L. M. *et al.* *Ocimum gratissimum* essential oil and eugenol against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*: in vitro activity and residual efficacy of a eugenol-based spray formulation. **Vet. parasitol.**, p. 109771, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109771>.

OLIVEIRA, P. C. *et al.* Efficacy of spinosad on the treatment of myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in dogs. **Vet. parasitol.**, v. 258, p. 53-56, 2018b.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília, DF, 1996.

OSWEILER, G. D. Inseticidas e Moluscidas. In: OSWEILER, G. D. **Toxicologia Veterinária**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998. p. 259-282.

OTRANTO, D. NEXGARD®. Afoxolaner, a new oral insecticide-acaricide to control fleas and ticks in dogs. Editorial. **Vet. parasitol.**, v. 201, n. 3-4, p. 177-178, 2014.

OTRANTO, D.; WALL, R. New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats. **Med. Vet. Entomol.**, v. 22, n. 4, p. 291-302, 2008.

OWENS, K.; FELDMAN, J.; KEPNER, J. Wide range of diseases linked to pesticides. **Database**, v. 30, n. 2, p. 14, 2010.

PACKIANATHAN, R. *et al.* Safety and efficacy of a new spot-on formulation of selamectin plus sarolaner in the treatment and control of naturally occurring flea infestations in cats presented as veterinary patients in Australia. **Parasit. vectors**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2020.

PALMA, K. G.; MEOLA, S. M.; MEOLA, R. W. Mode of action of pyriproxyfen and methoprene on eggs of Ctenocephalides felis (Siphonaptera: Pulicidae). **J. med. Entomol.**, v. 30, n. 2, p. 421-426, 1993.

PANDEY, A. K.; RAI, M. K.; ACHARYA, D. Chemical composition and antimycotic activity of the essential oils of corn mint (*Mentha arvensis*) and lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) against human pathogenic fungi. **Pharm. Biol.**, v. 41, n. 6, p. 421-425, 2003.

PAPACHRISTOS, D. P. *et al.* The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Manag Sci.**, v. 60, n. 5, p. 514-520, 2004.

PATERSON, S. Flea allergic dermatitis. **Companion Animal**, v. 20, n. 3, p. 168-172, 2015.

PAYNE, P. A. *et al.* Effect of 0,29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. **Vet. parasitol.**, v. 102, n. 4, p. 331-340, 2001.

PEREIRA, L. *et al.* **Estudo clínico dermatológico de canídeos com sintomatologia compatível com dermatite alérgica**. Trabalho apresentado em IX Congresso do Hospital Veterinário Montenegro, Santa Maria da Feira, 2013.

PEREIRA, P. S. *et al.* Evaluation of the In Vitro Antiparasitic Effect of the Essential Oil of *Cymbopogon winterianus* and Its Chemical Composition Analysis. **Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2753, 2022. doi: 10.3390/moléculas27092753.

PERKINS, R. *et al.* Potential role of veterinary flea products in widespread pesticide contamination of English rivers. **Sci. Total Environ.**, v. 755, p. 143560, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143560>.

PHILLIPS, A. K.; APPEL, A. G.; SIMS, S. R. Topical toxicity of essential oils to the German cockroach (Diptera: Blattellidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 103, n. 2, p. 448-459, 2010.

PISA, L.W. *et al.* Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 22, p. 68–102, 2015.

POLLET, R. A. *et al.* Lethargy Following use of ProMeris (R) Duo in Dogs-Myths and Facts. **J. Appl. Res. Vet. Med.**, v. 7, n. 3, p. 63-67, 2009.

POSTAL, J.-M. R.; JEANNIN, P. C.; CONSALVI, P.-J. Field efficacy of a mechanical pump spray formulation containing 0.25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermatological signs in dogs and cats. **Vet. Dermatol.**, v. 6, n. 3, p. 153-158, 1995.

PRASHAR, A. *et al.* Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 5, p. 569-575, 2003.

PROCHNOW, D. **Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero *Cymbopogon*:** uma contribuição para o melhoramento das espécies. 2018. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *et al.* Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v. 15, n. 8, p. 619–624, 2008.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **J. Stored Prod. Res.**, v. 44, n. 2, p. 126-135, 2008.

RAMSEY, J. T. *et al.* Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. **Yale j. biol. Med.**, v. 93, n. 2, p. 291, 2020.

RANA, V. S.; DAS, M.; BLAZQUEZ, M. A. Essential oil yield, chemical composition, and total citral content of nine cultivars of *Cymbopogon* species from Western India. **J. Herbs, Spices Med. Plants**, v. 22, n. 4, p. 289-299, 2016.

RAO, B. R. R. Aromatic plants for dry areas. In: SINGH, R. P.; OSMAN, M. (ed.). **Sustainable Alternate Land Use Systems for Drylands**. Dehra Dun: Oriental Enterprises, 1999. p. 157–170.

RAJESWARA RAO, B. R. Biological activities and medicinal uses of the essential oil and extracts of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*, *C. citratus*, *C. pendulus* and *C. species*). In: GOVIL, N.; BHATTACHARYA, S. **Recent Progress in Medicinal Plants**. Houston: Studium Press LLC, 2013. p. 213-257.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

REEVES, W. K.; MILLER, M. M. Aqueous 2% geraniol as a mosquito repellent failed against *Aedes aegypti* on ponies. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 26, n. 3, p. 340-341, 2010.

REIS, G. G. *et al.* Estudo do efeito da secagem em convecção natural e forçada na composição do óleo essencial da citronela (*Cymbopogon nardus*). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 8, n. 4, p. 47-55, 2006.

REY-VALEIRÓN, C. *et al.* Acaricidal activity of essential oils of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and *Schinus molle* L. on unengorged larvae of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:Ixodidae). **J. Essent. Oil Res.**, v. 29, p. 344–350, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1278405>. Acesso em: 10 nov. 2021.

RICE, P. J.; COATS, J. R. Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), redflourbeetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and Southern cornrootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 87, p. 1172-1179, 1994.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á. *et al.* Insecticidal properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, insect pest of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Insects**, v. 10, n. 5, p. 151, 2019.

RODRIGUEZ-VIVAS, R. I. *et al.* Uso de isoxazolinas: alternativa para control de pulgas, ácaros y garrafas en perros y gatos. **Bioagrociencias**, v. 12, n. 2, 2020.

ROSA, Y. R. S. *et al.* Influência do horário de colheita no óleo essencial de diferentes partes da planta de dois genótipos de palmarosa (*Cymbopogon martinii*). **Scientia plena**, v. 6, n. 10, 2010.

RUGG, D.; HAIR, J. A. Dose determination of a novel formulation of metaflumizone plus amitraz for control of cat fleas (*Ctenocephalides felis felis*) and brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs. **Vet. parasitol.**, v. 150, n. 3, p. 203-208, 2007.

RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. **Trends in Parasitology**, v. 21:5, p. 232-236, 2005.

RUST, M. K. Recent advancements in the control of cat fleas. **Insects**, v. 11, n. 10, p. 668, 2020.

RUST, M. K. *et al.* Susceptibility of adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) to insecticides and status of insecticide resistance mutations at the Rdl and knockdown resistance loci. **Parasitol. Res.**, v. 114, n. Suppl. 1, p. S7-S18, 2015.

RUST, M. K.; DRYDEN, M. W. The biology, ecology, and management of the cat flea. **Ann. Rev. entomol.**, v. 42, n. 1, p. 451-473, 1997.

RUST, M. K.; KNAPP, F. W. Insecticide resistance in fleas, pp. 18–26. In: **Proceedings of International Symposium on Ectoparasites of Pets, Lexington, KY**. Lexington: Univ. Kentucky, 1993.

SAGGIORO, E. M. *et al.* Lethal and sublethal effects of acetamiprid on *Eisenia andrei*: Behavior, reproduction, cytotoxicity and oxidative stress. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 183, 109572, 2019. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.109572.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

SALGADO, V. L.; HAYASHI, J. H. Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide. **Vet. Parasitol.**, v. 150, n. 3, p. 182-189, 2007.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. Piretroides—uma visão geral. **Alim. Nutriç. Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.

SCHENKER, R. et al. Efficacy of nitenpyram against a flea strain with resistance to fipronil. **Suppl. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 23, p. 16-19, 2001.

SCHUELE, G. et al. The effect of water and shampooing on the efficacy of a pyriproxyfen 12.5% topical solution against brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* and cat flea *Ctenocephalides felis* infestations on dogs. **Vet. Parasitol.**, v. 151, p. 300-311, 2008.

SCOTT, F. B. et al. Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 13-18, 2002.

SEDIKELO, G. K.; LENETHA, G. G.; MALEBO, N. J. Chromatography-mass spectrometry and chemical characteristics of Thymus zygis and Cymbopogon winterianus essential oils: Possible insect repellents. **Scientific African**, v. 15, p. e01095, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01095>. Acesso em: 16 jul. 2022.

SENTHOORAJA, R. et al. Electrophysiological, behavioural and biochemical effect of Ocimum basilicum oil and its constituents methyl chavicol and linalool on *Musca domestica* L. **Environ. sci. pollut. res.**, v. 28, n. 36, p. 50565-50578, 2021.

SGOLASTRA, F. et al. Bees and pesticide regulation: Lessons from the neonicotinoid experience. **Biol. Conserv.**, v. 241, 108356, 2020. doi:10.1016/j.biocon.2019.108356.

SHAH, G. et al. Scientific basis for the therapeutic use of Cymbopogon citratus, staph (Lemon grass). **J. adv. pharm. Technol. Res.**, v. 2, n. 1, p. 3, 2011.

SHARMA, P. R. et al. Anticancer activity of an essential oil from Cymbopogon flexuosus. **Chem. biol. Interact.**, v. 179, n. 2-3, p. 160-168, 2009.

SHASANY, A. K. et al. Phenotypic and RAPD diversity among Cymbopogon winterianus Jowitt accessions in relation to Cymbopogon nardus Rendle. **Genet. resour. crop evol.**, v. 47, n. 5, p. 553-559, 2000.

SHEIKH, Z. et al. Repellent Efficacy of Eucalyptus globulus and Syzygium aromaticum Essential Oils against Malaria Vector, Anopheles stephensi (Diptera: Culicidae). **Iran. j. public health**, v. 50, n. 8, p. 1668, 2021. doi: 10.18502/ijph.v50i8.6813.

SHOOP, W. L. et al. Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isooxazoline parasiticide for dogs. **Vet. parasitol.**, v. 201, n. 3-4, p. 179-189, 2014.

SHOOP, W. L.; MROZIK, H.; FISHER, M. H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Vet. parasitol.**, v. 59, n. 2, p. 139-156, 1995.

SHOULIANG, C.; PHILLIPS, S. M. Cymbopogon Sprengel. **Flora of China**, v. 22, p. 624-631, 2006.

SIAK, M.; BURROWS, M. Flea control in cats: new concepts and current armoury. **J. Feline Med. Surg.**, v. 15, n. 1, p. 31-40, 2013.

- SILVA, A. C. B.; PELLI, A. Repelência de *Cymbopogon nardus* L. (capim citronela) em *Nauphoeta cinerea* (Olivier, 1789) (Blattodea: Blaberidae). **Scientia vitae**, v. 10, n. 31, 2020.
- SILVA, C. T. S. *et al.* Effects of citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) midgut and fat body. **Biotech. Histochem.**, v. 93, n. 1, p. 36-48, 2018.
- SILVA, J. J. O. *et al.* Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.
- SILVA, S. *et al.* Estudo casuístico de dermatites por reação de hipersensibilidade em cães e gatos. **Rev. Port. Cienc. Vet.**, v. 104, n. 469-572, p. 45-53, 2009.
- SINGH, A.; KUMAR, A. Cultivation of Citronella (*Cymbopogon winterianus*) and evaluation of its essential oil, yield and chemical composition in Kannauj region. **Int. J. Biotechnol. Biochem.**, v. 13, n. 2, p. 139-146, 2017.
- SINHA, S. *et al.* Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. **Food Chem. Toxicol.**, v. 68, p. 71-77, 2014.
- SNYDER, D. E. *et al.* Preliminary studies on the effectiveness of the novel pulicide, spinosad, for the treatment and control of fleas on dogs. **Vet. parasitol.**, v. 150, n. 4, p. 345-351, 2007.
- SOENARKO, S. The genus *Cymbopogon* Sprengel (Gramineae). **Reinwardtia**, v. 9, n. 3, p. 225-375, 1977.
- SOLOMON, B.; GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K. Mosquito repellent actions of the essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* and *Eucalyptus citriodora*: evaluation and formulation studies. **J. Essential Oil Bearing Plants**, v. 15, n. 5, p. 766-773, 2012.
- SOUSA, C. A.; HALLIWELL, R. E. W. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 81, n. 3-4, p. 233-237, 2001.
- SPINOSA, H. S.; XAVIER, F. G.; MARUO, V. M. Toxicologia dos medicamentos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; PALERMO NETO, J. (Ed.). **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. Barueri: Manole, 2008. p. 117-189.
- SRITABUTRA, D.; SOONWERA, M. Repellent activity of herbal essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.). **Asian Pac. J. Trop. Dis.**, v. 3, n. 4, p. 271-276, 2013.
- TABARI, M. A. *et al.* Toxicity of β-citronellol, geraniol and linalool from *Pelargonium roseum* essential oil against the West Nile and filariasis vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **Res. Vet. Sci.**, v. 114, p. 36-40, 2017.
- TAENZLER, J. *et al.* Efficacy of fluralaner against *Otodectes cynotis* infestations in dogs and cats. **Parasit.Vectors**, v. 10, n. 1, p. 30, 2017. doi: 10.1186/s13071-016-1954-y
- TAKAGI, K. *et al.* Discovery of metaflumizone, a novel semicarbazone insecticide. **Vet. parasitol.**, v. 150, n. 3, p. 177-181, 2007.

TAN, K. H.; NISHIDA, R. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. **J. Insect. Sci.**, v. 12, n. 56, p. 56, 2012. Doi:10.1673/031.012.5601.

TANCREDI, M. G. F. *et al.* Eficácia comparativa de duas formulações de uso tópico contendo fipronil 10% no controle de Ctenocephalides felis felis em gatos. **Rev. bras. parasitol. vet.**, v. 18, n. 4, p. 74-77, 2009.

TAWATSIN, A. *et al.* Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. **J. vector ecol.**, v. 26, p. 76-82, 2001.

TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **Vet. J.**, v. 161, n. 3, p. 253-268, 2001.

TELAUMBANUA, M. *et al.* Plant-based pesticide using citronella (*Cymbopogon nardus* L.) extract to control insect pests on rice plants. **IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.**, p. 012071, 2021. doi:10.1088/1755-1315/739/1/012071.

TENNYSON, S. *et al.* Larvicidal efficacy of plant oils against the dengue vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Middle-East J. Scient. Res.**, v. 13, n. 1, p. 64-68, 2013.

THOMPSON, G.D. *et al.* Spinosad—a case study: an example from a natural products discovery programme. **Pest Manag. Sci.**, v. 56, n. 8, p.696-702, 2000.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. **Essential oil safety**: a guide for health care professionals. [s.l.]: Elsevier Health Sciences, 2013.

TRONGTOKIT, Y. *et al.* Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytother. Res.**, v. 19, n. 4, p. 303-309, 2005.

UNEP. The Aral Sea: Diagnostic study for the development of an Action Plan for the conservation of the Aral Sea. Nairobi, 1993.

VALADARES-INGLIS, M. C. C.; SHILER, W.; SOUZA, M. T. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 201-230.

VANBERGEN, A. J. *et al.* Threats to an ecosystem service: Pressures on pollinators. **Front Ecol. Environ.**, v. 11, n. 5, p. 251–259, 2013.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. D. Uma generalização do sistema de índice de retenção, incluindo cromatografia de partição gás-líquido programada por temperatura linear. **Rev. Cromatografia**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VICENTINI, V. B. *et al.* Ethanol extract of *Cymbopogon winterianus* on mortality and number of eggs of *Tetranychus urticae*. **Ciência Rural**, v. 45, p. 1154-1159, 2015.

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

VILLARREAL, J. P. V. *et al.* Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus in vitro. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 26, n. 3, p. 299–306, 2017.

VOBIS, M. *et al.* Experimental quantification of the feline leukaemia virus in the cat flea (*Ctenocephalides felis*) and its faeces. **Parasitol. Res.**, v. 97, n. 1, p. S102-S106, 2005.

VOBIS, M. *et al.* The feline leukemia virus (FeLv) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitol. Res.**, v. 90, p. 132-134, 2003.

WALTHER, F. M. *et al.* Segurança dos comprimidos mastigáveis de fluralaner (Bravecto<sup>TM</sup>), uma nova droga antiparasitária sistêmica, após administração por via oral em cães. **Parasit. vectors**, v. 7, n. 87, p. 20-26, 2014.

WANG, H. *et al.* Responses of detoxification enzymes in the midgut of *Bombyx mori* after exposure to low-dose of acetamiprid. **Chemosphere**, v. 251, 126438, 2020.  
doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126438.

WANY, A. *et al.* Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from *Cymbopogon winterianus*: A short review. **Int. J. Adv. Res.**, v. 1, n. 6, p. 504-521, 2013.

WEI, L. S.; WEE, W. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon nardus* citronella essential oil against systemic bacteria of aquatic animals. **Iran. j. microbiol.**, v. 5, n. 2, p. 147, 2013.

WELLINGTON, K. W. *et al.* Further studies on South African plants: acaricidal activity of organic plant extracts against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.**, v. 234, p. 10–12, 2017. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.12.014.

WENZEL, U. *et al.* Efficacy of imidacloprid 10%/moxidectin 1% (Advocate®/Advantage Multi<sup>TM</sup>) against fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on ferrets (*Mustela putorius furo*). **Parasitol. Res.**, v. 103, n. 1, p. 231-234, 2008.

WILLIAMS, H. *et al.* Fluralaner, uma nova isoxazolina, impede a reprodução de (*Ctenocephalides felis*) in vitro e em um ambiente doméstico simulado. 2014.

WINDHOLZ, M. *et al.* The Merck Index. In: DUNKEL, F.V.; SEARS, L. J. Fumigant properties of physical preparatios from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Ssp. *Vaseyana* (Rydb.) bettle for storedgraininsects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.

WING, K. D. *et al.* Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. **Crop Protection**, v. 19, n. 8-10, p. 537-545, 2000.

WOLKEN, S. *et al.* Evaluation of spinosad for the oral treatment and control of flea infestations on dogs in Europe. **Vet. Record**, v. 170, n. 4, p. 99-99, 2012.

WONG, K. K. Y. *et al.* Citronela as an insect repellent in food packaging. **J. agric. Food chem.**, v.53, p. 4633-4636, 2005.

WOOD, T. J.; GOULSON, D. The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. **Environ. sci. pollut. res.**, v. 24, n. 21, p. 17285-17325, 2017.

WOODCOCK, B. A. *et al.* Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. **Nat. Commun.**, v. 7, p. 1–8, 2016. doi:10.1038/ncomms12459.

WOODS, J. E. *et al.* Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. **Am. J. vet. Res.**, v. 66, n. 6, p. 1008-1012, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. 1981. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69615>. Acesso em: 22 fev. 2022.

XAVIER, A. L. S.; DA SILVA FRANÇA, K. R.; CARDOSO, T. A. L. Efeito do óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*) sobre fungos fitopatogênicos em sementes de soja. **Res. Soc. Develop.**, v. 9, n. 10, p. e4529108660-e4529108660, 2020. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8660>.

YANG, P.; MA, Y. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. **J. vector ecol.**, v. 30, n. 2, p. 231, 2005.

YUSUFOGLU, H. S. *et al.* Mosquito and tick repellency of two *Anthemis* essential oils from Saudi Arabia. **Saudi Pharm. J.**, n. 26, v. 6, p. 860–864, 2018.

ZAKSON-AIKEN, M.; GREGORY, L. M.; SHOOP, W. L. Development of an assay for the screening of compounds against larvae of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **J. med. Entomol.**, v. 37, n. 4, p. 571-574, 2000.

ZHU, Q. *et al.* Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (A review). **Chemosphere**, v. 254, p. 126779, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136307>. Acesso em: 12 maio 2022.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Potentiality of plants as source of insecticide principles. **J. Saudi Chem. Soc.**, v. 18, n. 6, p. 925-938, 2014.

ZULFIKAR, A. W.; SITEPU, F. Y. The effect of lemongrass (*Cymbopogon nardus*) extract as insecticide against *Aedes aegypti*. **Int. J. Mosq. Res.**, v. 6, n. 1, p. 101-103, 2019.

## 8. ANEXO

**Certificado de Aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para a Manutenção da colônia laboratorial da pulga *Ctenocephalides felis felis* em gatos**



**UFRRJ**  
Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Manutenção de colônia laboratorial da pulga *Ctenocephalides felis felis* em gatos", protocolada sob o CEUA nº 4313110419 (ID 001277), sob a responsabilidade de **Thaís Ribeiro Correia Azevedo** e equipe; **Diefrey Ribeiro Campos**; **Brena Gava Guimarães**; **Jessica Karolina de Oliveira Chaves**; **Thalita Xavier de Araújo da Silva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 27/05/2019.

We certify that the proposal "Maintenance of laboratory colony of the *Ctenocephalides felis felis* flea in cats", utilizing 18 Cats (males and females), protocol number CEUA 4313110419 (ID 001277), under the responsibility of **Thaís Ribeiro Correia Azevedo** and team; **Diefrey Ribeiro Campos**; **Brena Gava Guimarães**; **Jessica Karolina de Oliveira Chaves**; **Thalita Xavier de Araújo da Silva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 05/27/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2019 a 01/2024      Área: Parasitologia Animal

Origem:	Animais mantidos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	sexos:	Machos e Fêmeas	idade:	6 a 96 meses	N:	18
Espécie:	Gatos	Peso:	2 a 7 kg				
Linhagem:	Sem raça definida						

Local do experimento: Será realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Km 07 da BR 465, Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. As instalações ficam localizadas no Anexo I do Instituto de Veterinária. O endereço da UFRRJ é Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, CEP 23890-000.

Seropédica, 15 de agosto de 2019

*Fabio B Scott*

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

*Carlos Alexandre Rey Matias*

Vice-Cordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro