

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS
PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA SOBRE O
DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE DÍPTEROS
MUSCOIDES.**

Zeneida Teixeira Pinto

2015



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

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS
PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA SOBRE O
DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE DÍPTEROS
MUSCOIDES.**

ZENEIDA TEIXEIRA PINTO

Sob a Orientação dos professores
Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Julio César Escalona-Arranz

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor** em Ciências, no curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica RJ
Fevereiro/2015

595.77

P659c

T

Pinto, Zeneida Teixeira, 1963-

Caracterização química e atividade inseticida dos óleos essenciais de plantas aromáticas procedentes do Brasil e de Cuba sobre o desenvolvimento pós-embrionário de dípteros muscoides / Zeneida Teixeira Pinto. - 2015.
228 f.: il.

Orientador: Margareth Maria de Carvalho Queiroz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Díptero - Controle - Teses. 2. Inseticidas vegetais - Teses. 3. Essências e óleos essenciais - Composição - Teses. I. Queiroz, Margareth Maria de Carvalho, 1964- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

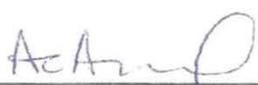
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
ZENEIDA TEIXEIRA PINTO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**,
no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em
Parasitologia Veterinária.

TESE APROVADA EM 10/ 02/ 2015



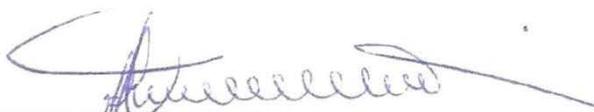
Margareth Maria de Carvalho Queiroz (Dra.) Fiocruz (Orientadora)



Ana Cláudia Fernandes Amaral (Dra.) Fiocruz



José Mario d'Almeida (Dr.) UFF



Maurício Carvalho de Vasconcelos (Dr.) Fiocruz



Marise Maleck de Oliveira Cabral (Dra.) U. S. Sombra/ Vassouras, RJ.

Dedico este trabalho as minhas filhas **Júlia e Amanda**, aos meus pais, **Air** (*in memorium*) e **Rude**, e aos meus irmãos, **Aristor, Aimaré e Francisco** e as minhas queridas tias **Anathema e Aada** pelo apoio e pelos incansáveis exemplos de amor e compreensão.

“Um homem possuído pela paz está sempre a sorrir”

Milan Kundera

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Pai Cesar pelos conselhos e orientação espiritual.

Agradeço ao Dr Carlos Maria Antonio Hubinger Tokarnia, que gentilmente me cedeu uma vaga entre os seus alunos para que eu pudesse concorrer ao doutorado nessa instituição (UFRRJ).

Sou muito grata aos professores e orientadores Margareth Maria de Carvalho Queiroz (FIOCRUZ) e Julio Cesar Escalona – Arranz (Universidade de Oriente/CUBA).

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPCV) por toda atenção dispensada, em especial ao Arthur Santiago Junior e ao professor José Luis Fernando Luque Alejos.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos para a realização deste trabalho.

Agradeço as minhas filhas Amanda e Júlia, por estarem sempre ao meu lado, agradeço por completarem e encherem minha vida de alegria, paz e sonhos. Obrigada pelo amor, carinho e por suportar a distância quando estive estudando em Cuba. Amo muito vocês.

Um agradecimento especial a meu pai Air “*in memorian*” que fez de tudo para que eu conseguisse entrar no doutorado, e quem sempre dizia que “***A maior e mais valiosa herança que deixarei a você é a educação***”.

Agradeço ao Dr Julio Cesar Escalona – Arranz por ter me ajudado nos experimentos na Universidade do Oriente - Cuba, pela paciência, pela compreensão, pela atenção, pelo apoio e pela amizade e por ter me cedido parte do material vegetal (Cuba) para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço à Dra Ana Claudia Amaral e sua equipe, pela importante contribuição, por todo o suporte e disponibilidade de tempo e do material vegetal (Brasil) e químico para

desenvolvimento desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Transmissores de Leishmaniose/IOC pelos momentos de descontração e convivência que tornaram melhor e mais leve esta caminhada, e a todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para meu crescimento profissional e pessoal. Um agradecimento especial para os meus amigos Rebecca Leal Caetano e Cesar Carriço que me ajudaram em todas as fases da tese.

RESUMO GERAL

Os dípteros muscoides apresentam importância em saúde pública, pois atua como vetor mecânico de patógenos (bactérias, vírus, ovos de helmintos), além de causar miíases secundárias no homem e nos animais. Os inseticidas químicos têm sido de grande importância no controle de dípteros sinantrópicos, mas apresentam grande persistência e um amplo espectro de ação, causando um impacto prolongado ao ambiente. Uma forma alternativa a este tipo de controle são os metabólitos secundários de plantas, que são considerados o princípio ativo dos inseticidas naturais. O presente estudo foi dividido em dois capítulos que abordam o tema do controle natural. O primeiro capítulo foi relativo a análise da composição química do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* coletado no Brasil e Cuba, e da avaliação do óleo e do seu componente majoritário citral sob o desenvolvimento pós-embrionário de *Musca domestica*, *Chrysomya putoria*, *C. megacephala* e *Lucilia cuprina*. A análise da composição química dos óleos essenciais (Brasil/Cuba), por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC-EM), permitiu a identificação de 13 e 12 componentes principais, respectivamente; nove deles comuns aos dois. Em ambos os óleos, os principais componentes foram os isômeros geranial e neral, que, juntos, formam o composto citral. Esse corresponde a um total de 97,92%/Brasil e 97,69%/Cuba dos compostos identificados. O monoterpeno mirceno, observado na amostra cubana, apresentou grande abundância relativa (6,52%). Os dípteros foram submetidos a diferentes concentrações do óleo de *C. citratus* (5, 10, 25, 75 e 100%) (Brasil/Cuba). As substâncias foram aplicadas topicamente nas neolarvas (1µL/larva). Não houve grandes diferenças entre a atividade do óleo cubano e brasileiro. As espécies *L. cuprina*, *M. domestica*, *C. megacephala* tiveram o seu período pós-embrionário aumentado pelos dois óleos (Brasil/Cuba), porém em *C. putoria* ela apresentou um encurtamento no período larval e no período de neolarva a adulto. Todos os grupos tratados apresentaram deformidades. Os resultados do teste com o monoterpeno Citral mostraram que *C. megacephala* foi a espécie mais sensível matando 73% no período larval e 77% no período de neolarva a adulto e a espécie menos sensível foi *C. putoria*

que apresentou 40% de mortalidade no período larval e 57% no período de neolarva a adulto. O Citral encurtou o período pós-embrionário das espécies *M. domestica*, *L. cuprina* e *C. megacephala*, porém na espécie *C. putoria* ele atrasou. No segundo capítulo objetivou analisar a composição química do óleo essencial de *Pinus caribaea* coletado no Brasil e Cuba, e avaliar a sua ação e a do seu componente cariofileno sob o desenvolvimento pós-embrionário análise da composição química do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* coletado no Brasil e Cuba, e da avaliação do óleo e do seu componente majoritário citral sob o desenvolvimento pós-embrionário de *Musca domestica*, *Chrysomya putoria*, *C. megacephala* e *Lucilia cuprina*. Para o óleo essencial obtido das folhas de *P. caribaea* coletadas no Brasil foram identificadas 12 substâncias químicas, sendo o β -Felandreno (39,57%), Germacreno D (26,57%) e (E) Cariofileno (16,85%) os majoritários. A análise do óleo das folhas de *P. caribaea* provenientes de Cuba resultou na identificação de 20 substâncias, sendo o Germacreno D (48,25%), Óxido de Cariofileno (12,41%) e β Felandreno (12,10%) Germacreno D (48,25%) os constituintes majoritários. O Cariofileno mostrou ser mais tóxico para *M. domestica* com uma mortalidade de 87% na fase de neolarva a adulto e as espécies menos afetadas foram *L. cuprina* e *C. megacephala* com 83% de mortalidade e para *C. putoria* a mortalidade observada foi de 63%. O período pós- embrionário foi encurtado nas espécies *M. domestica*, *L. cuprina* e *C. megacephala* e aumentado em *C. putoria*. O peso pupal foi reduzido na maioria das espécies com exceção de *C. putoria* que teve ele aumentado e não houve alteração na proporção sexual nas espécies estudadas.

Palavras Chave: Bioinseticida, Óleo essencial, Diptera muscoide

GENERAL ABSTRACT

The muscoid flies have important public health because it acts as a mechanical vector of pathogens (bacteria, viruses, helminth eggs) and cause secondary myiasis in humans and animals. Chemical insecticides have been of great importance in the control of synanthropic flies, but have great persistence and a broad spectrum of action, causing a

prolonged impact on the environment. An alternative way to this type of control are secondary metabolites of plants, which are considered the active principle of natural insecticides. This study was divided into two chapters that approached the theme of natural control. The first chapter is related to the essential oil chemical composition of *Cymbopogon citratus* collected in Brazil and Cuba, and evaluation of oil and its major component citral against the post-embryonic development of *Musca domestica*, *Chrysomya putoria*, *C. megacephala* and *Lucilia cuprina*. The chemical analysis of the essential oils allowed the identification of 13 and 12 chemical components, respectively, and in both the major components were the isomers Neral (35.21% – Cuba) (36.37% - Brazil) and Geranial (53.2% - Brazil) (51.14% - Cuba) and, Myrcene (6.52%), in a smaller proportion, was only found in Cuban oil. The results show that there were no differences between the activity of Cuban oil and Brazilian. The post-embryonic period of *L. cuprina*, *M. domestica* and *C. megacephala* elongated with the treatment with both oils, but it shortened the larval and neolarva to adult periods for *C. putoria*. All groups presented morphological alterations.

The results of the test showed that *C. megacephala* was the most sensitive species killing 73% in larval stage and 77% in newly-hatched larvae to adult and less sensitive was *C. putoria* with 40% mortality in the larval stage and 57% in newly-hatched larvae to adult. Citral shortened post-embryonic development period (larval, pupal and newly hatched larvae to adult) of *M. domestica*, *L. cuprina* and *C. megacephala* but *C. putoria* was delayed. In the second chapter, the aim was to analyze the chemical composition and insecticidal effect of the essential oils extracted from leaves of *Pinus caribaea* Morelet collected in Brazil and Cuba and the terpene Caryophyllene, on the post-embryonic development of the species *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* e *Lucilia cuprina*. Twelve components were identified in the essential oil of *P. caribaea* collected in Brazil, and β Phellandrene and Germacren D and (E) Caryophyllene were the major components, with relative areas of 39.57, 26.57 and 16.85% respectively. In comparison, 20 components were identified from the essential oil of the same species originated from Cuba with the major components, Germacrene D (48.25%), α β -Phellandrene (12.10%) and Caryophyllene Oxide (12.41%).

Caryophyllene was more toxic to *M. domestica* with an 87% of mortality for the newly hatched larvae to adult, the less affected species were *L. cuprina* and *C. megacephala* with 83% of mortality and for *C. putoria* the mortality was 63%. The

post-embryonic development period was shortened in the species *M. domestica*, *L. cuprina* and *C. megacephala* and prolonged in *C. putoria*. The pupal weight was reduced in most species except in *C. putoria* that it had increased; there was no change in the sex ratio in the species in the study.

Key Words: Bioinsecticide, Essential oil, Diptera muscoide

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 OBJETIVOS.....	23
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
CAPÍTULO I: AVALIAR A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA E O MONOTERPENO CITRAL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS DÍPTEROS MUSCOIDES.....	36
1 Resumo.....	37
2 Abstract.....	37
3 Introdução.....	38
4 Material e Métodos (Capítulo I e II)	43
5 Resultados e Discussão.....	52
6 Conclusões.....	128
7 Referências Bibliográficas.....	129
CAPÍTULO II: AVALIAR A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PINUS CARIBAEA</i> PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA E O TERPENO CARIOFILENO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS DÍPTEROS MUSCOIDES.....	123
1 Resumo.....	124
2 Abstract.....	124
3 Introdução.....	125
4 Material e Métodos	129
5 Resultados e Discussão.....	137
6 Conclusões.....	177
7 Referências Bibliográficas	178
8 Conclusões Gerais.....	179
Anexos.....	190

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Ordem Diptera

Representa uma das maiores ordens de insetos. Seus representantes possuem desenvolvimento holometabólico, e se caracterizam por possuírem um par de asas membranosas anteriores bem desenvolvidas e um segundo par reduzido em formato de halteres que servem como equilíbrio. Possuem grande importância médica-veterinária por carregarem patógenos que causam doenças em homens e em outros animais (McALPINE et al., 1987; BARBOSA et al., 2014; CARRIÇO et al., 2014). Antes a classificação dessa ordem era dividida em três subordens: Nematocera, Cyclorrhapha (CARVALHO et al., 2012) e Brachycera (McALPINE (1981). Atualmente, a ordem Diptera é dividida em duas subordens: Nematocera e Brachycera. A Nematocera contém famílias de insetos que se alimentam de sangue, que servem como vetores para uma variedade de doenças causadas por vírus, protozoários e helmintos, especialmente a Culicidae (TEIXEIRA, 2013 *apud* FOLEY et al., 2007). Brachycera é composta de quatro infraordens: Stratiomyomorpha, Xylophagomorpha, Tabanomorpha e Muscomorpha (CARVALHO et al., 2012). A infraordem Muscomorpha ou "Cyclorrhapha" contém todas as espécies que causam miíase específica e a maioria das espécies responsáveis pela miíase facultativa, especialmente as espécies de dípteros caliptrados (FRANCESCONI & LUPI, 2012). Dentro de Muscomorpha está a seção Schizophora representada aproximadamente por 80 famílias (CARVALHO et al., 2012). Os adultos emergem do pupário utilizando uma estrutura membranosa chamada de ptilíneo, que se infla rompendo a ampola frontal o pupário; Schizophora compreende dois grupos maiores Calyptrate e "Acalyptrate". Esses nomes baseiam-se no tamanho da calíptera inferior, e não é adequado para definir a monofilia de nenhum deles (CARVALHO et al., 2012).

Calyptrate está bem suportada com base na presença de um sulco na base do pedicelo, da sutura transversal completa no mesonoto e de cerdas costais alternadas em tamanho e outras estruturas. Em calyptrate são incluídas três grandes superfamílias de importância médica-veterinária: Hippoboscoidea, Muscoidea e Oestroidea. Dentro de Muscoidea, temos as famílias Muscidae e Fannidae. E em Oestroidea temos Calliphoridae, Sarcophagidae e Oestridae. A família Calliphoridae é uma das famílias

mais importantes no que diz respeito aos dípteros que causam miíases (FRANCESCONI, LUPI, 2012).

Diversos dípteros se alimentam de secreções do corpo ou a utilizam para sua reprodução (PEREZ et al., 1997). Segundo HOPE (1840), miíase é um processo patológico que se refere à infestação de qualquer órgão do hospedeiro vertebrado por larvas de Diptera. Porém, a definição considerada mais correta é a de ZUMPT (1965), que descreve miíase como sendo a infestação de animais vertebrados, incluindo o homem, com larvas de dípteros, que por um período de tempo se alimentam de tecidos vivos ou mortos do hospedeiro, dos líquidos ou alimentos ingeridos por este (PEREZ et al., 1997).

As miíases são classificadas em: (1) primárias, as larvas se alimentam de tecidos vivos sendo chamadas de biontófagas; (2) secundárias, as larvas são chamadas de necrobiontófagas, se desenvolvem em tecidos necrosados de animais vivos (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES, PAPAVERO, 1999; MELLO, 2003). Em termos anatômicos, baseado na posição do corpo que irão ocorrer, as miíases podem ser classificadas em cutânea, subcutânea ou cavitária (nariz, seios da face, ouvido, boca, ânus, vagina etc.).

As principais espécies causadoras de miíases pertencem ao grupo dos Calyprata e estão classificadas dentro da família Calliphoridae. Na região Neotropical, as espécies da família Calliphoridae que mais causam miíases pertencem aos gêneros *Cochliomyia*, *Comptosomyiops*, *Lucilia*, *Calliphora* e *Chrysomya*. As espécies biontófagas causadoras de miíases primárias em humanos são *Dermatobia hominis* e *Cochliomyia hominivorax* (FRANCESCONI, LUPI, 2012; MORETTI, THYSSEN, 2006; BATISTA-DA-SILVA et al., 2009; SUKONTASON et al., 2005).

1.1.1. Família Calliphoridae

Os califorídeos são dípteros conhecidos como moscas varejeiras, possuem o corpo de tamanho médio a grande, comumente de coloração metálica azul, violeta, verde ou cúprica (MELLO, 2003; SOULSBY, 1982), possuem antenas tri-segmentadas com estrutura cerdiforme no último segmento denominada arista, a qual é plumosa com cílios longos até o ápice. O mero apresenta cerdas bem desenvolvidas; possuem três cerdas no catépigerno, notopleura com duas cerdas e raramente com uma acessória, mesonoto com ou sem faixas pretas longitudinais, nervura M1+2 fortemente curvada para diante distalmente, estreitando desse modo a célula apical (R4+5); esquamas ou

calípteros torácicos bem desenvolvidos; segmentos abdominais sem cerdas distais, ou estas pouco desenvolvidas; cerdas marginais de desenvolvimento variável (SERRA FREIRE & MELLO, 2006).

A maioria das espécies e mais da metade dos gêneros dessa família estão restritos ao velho mundo (SHEWEL, 1987). Os califorídeos que ocorrem na região Neotropical são agrupados nas subfamílias: Chrysoyinae, Calliphorinae e Toxotarsinae (AMORIM et al., 2002). No Brasil, essa família é representada por 14 gêneros e 36 espécies (MELLO, 2003).

Apresentam a base do rádio com uma fileira de pelos ou cílios na superfície superior; coxa posterior sem pelos posteriormente; mesonoto sem faixas longitudinais, calíptera inferior pilosa superiormente e tergitos abdominais com faixas pretas transversais (GUIMARÃES et al., 1983; RIBEIRO, CARVALHO, 1998).

Espécies do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy 1830, são vulgarmente conhecidas como moscas-varejeiras, e têm grande importância médica-sanitária, uma vez que estas são responsáveis pela produção de miíases secundárias em seres humanos e animais (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES et al., 1978; FURLANETO et al., 1984), além de serem de fundamental importância em entomologia forense por serem indicadoras de tempo de decomposição de cadáveres humanos (GOMES et al., 2003; VON ZUBEN et al., 1996; WELLS & GREENBERG, 1992). Originalmente, sua distribuição compreendia o Velho Mundo, sendo introduzida no continente sul americano na década de 1970 (GUIMARÃES et al., 1978, 1979). IMBIRIBA et al. (1977) relataram pela primeira vez este gênero no país, identificando *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) no Paraná e GUIMARÃES et al. (1978) registraram a ocorrência de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) em São Paulo - SP.

Chrysomya megacephala (Figura 1A) é uma das principais moscas veiculadora de ovos e larvas de helmintos, podendo veicular tanto pela superfície do corpo como também através do conteúdo intestinal. Os helmintos veiculados por esta espécie de mosca foram: *Ascaris* sp., *Toxascaris* sp., *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Oxiurídeos* e Triconstrongilídeos OLIVEIRA et al. (2002).

Chrysomya putoria (Figura 1B) apresenta grande importância médica-sanitária, pois é capaz de atuar como vetor de bactérias como: *Escherichia coli* e *Proteus* sp. encontradas na flora habitual do inseto (LIMA, LUIZ, 1991). Esta espécie é conhecida na África como a mosca da latrina, por causa da sua forte associação com as fezes

humanas, sendo incriminada como vetor dos agentes etiológicos da diarreia neste país (LINDSAY et al., 2012).

A biologia das espécies deste gênero que são encontradas no Brasil é bastante semelhante. As fêmeas são capazes de colocar de 200 a 300 ovos em massas (DOE, 1988), sobre a pele e ao redor de feridas ou sobre carcaças de animais mortos, alimentos, fezes ou qualquer outra fonte de matéria orgânica para nutrição dos imaturos. Dos ovos eclodem as larvas, também chamadas de neolarvas por ainda não terem se alimentado, que passam por três instares larvares (L1, L2 e L3) (GOFF, 2000). A larva de terceiro instar sofre a quitinização da camada cuticular mais externa e forma o pupário, dentro do qual irá se desenvolver a pupa, dando origem ao adulto. O ciclo de vida demora aproximadamente 7 dias, sendo que a taxa de desenvolvimento depende da temperatura, umidade e disponibilidade de alimento (CHAPMAN, 1998; DOE, 1988). As fêmeas depositam os seus ovos em torno de 5 a 10 dias após a cópula (AHID, 2009).



Figura 1. (A) - *Chrysomya megacephala* e (B) *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae). <http://www.nhm.ac.uk/researchcuration/lifesciences/insects/organisms/diptera/brachycera-cyclorrhapha-calypttrata/life-cycle/index.html> ---- <http://www.diptera.info/photogallery.php?rowstart=60>

1.1.2. Gênero *Lucilia*

O gênero *Lucilia* possui coloração azul ou verde metálica, podendo ter reflexos cúpricos e amarelados, tamanho médio de cerca de 8 a 10 mm de comprimento. Cabeça castanho-escuro com a parafaciália coberta por uma pilinosidade prateada ou amarelo-ouro. Olhos vermelhos - pardacentos. Aristas longas e densamente pilosas. Tórax sem

faixas longitudinais no mesonoto. Asas com o remígio sem pelos, dorsal e ventralmente (SERRA-FREIRE & MELLO, 2006).

Este gênero possui em torno de 27 espécies muito semelhantes entre si e as larvas da maioria das espécies são saprófagas. Entretanto, duas espécies atuam como principais ectoparasitas: *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) e *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) e, mais ocasionalmente, *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758) e *Lucilia illustris* Meigen, 1826, podem ser encontradas em miíases. Elas são mais encontradas atuando em miíases cutâneas de ovelhas, embora possam infestar outros animais e até mesmo o homem. Predominantemente, distribuídas pela região Paleártica e Oriental, algumas espécies têm distribuição cosmopolita como é o caso de *L. cuprina* e *L. sericata* através do movimento de ovinos domésticos (STEVENS & WALL, 1997).

Os ovos depositados pelas fêmeas de todas as espécies são sempre brancos e depositados próximos ou sobre cadáveres de animais. As larvas eclodem no período de 6 a 12 horas, dependendo das condições do ambiente. A larva de terceiro instar apresenta a placa peritremal completa e as aberturas estigmáticas convergindo para o botão espiracular (SERRA-FREIRE & MELLO, 2006). A biologia geral é muito semelhante aos outros califorídeos.

1.1.3. *Lucilia cuprina*

Lucilia cuprina (Figura 2) é uma espécie cosmopolita e de grande importância médica-veterinária, pois tanto na África quanto na Austrália responde pela maioria dos relatos de casos de miíases em ovinos. É comumente encontrada em lixo urbano, substratos de carne em decomposição, frutos caídos, flores e fezes humanas e de animais. Além disso, é responsável pela transmissão de microrganismos patogênicos e mantém um alto grau de sinantropia, podendo ser encontrada comumente em carcaças e lixões (GOMES & VON ZUBEN, 2004; PAES et al., 2000).

Distribui-se por todas as regiões quentes, ocorrendo nas Américas, indo da parte Sul dos Estados Unidos até a Argentina (NEVES, 2004). Essa espécie causa muitos prejuízos na ovinocultura (MORAIS et al., 2003), sendo detectada a partir de 1988 na Nova Zelândia.

As fêmeas dessa espécie possuem um tempo de maturação de cinco dias em média, o número de posturas por fêmeas é tendenciosamente inverso ao número de indivíduos, não havendo efeito de grupo para a oviposição. Essa espécie alcança seu

pico de oviposição entre o quinto e sétimo dia após a emergência com picos subsequentes nos dias 6, 9, 16 e 23, respectivamente (PAES et al., 2005). Essas informações são muito importantes para ajudar no manejo de ações de controle químico e biológico.



Figura 2. *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae) <http://www.sciencentre.qm.qld.gov.au>.

1.1.4. Família Muscidae

Os representantes desta família na região Neotropical abrangem cerca de 4.600 espécies que ocorrem em todas as regiões biogeográficas das quais 843 espécies ocorrem nas regiões neotropicais (MARCONDES, 2001). As espécies dessa família possuem caliptras e peças bucais bem desenvolvidas, do tipo lambedor ou do tipo picador-sugador; mero sem cerdas fortes abaixo do espiráculo, podendo ter pelos esparsos; quarta nervura longitudinal (M1+2) podendo ser muita ou pouco encurvada em direção à terceira nervura (R4+5), delimitando uma célula com maior ou menor abertura ao nível da margem alar; arista normalmente plumosa até a extremidade distal. Machos e fêmeas dicópticos, fêmeas com maior afastamento entre os olhos (SERRA FEIRE & MELLO, 2006).

Suas espécies estão distribuídas em sete subfamílias: Atherigoninae, Muscinae, Azeliinae, Cyrtoneurinae, Phaoniinae, Mydaeinae e Coesiinae sendo distribuídas por todas as regiões biogeográficas.

Musca domestica (Figura 3) é uma espécie cosmopolita que está associada à decomposição de carcaças (OLIVEIRA-COSTA, 2011); também carrega vários patógenos de muitas doenças humanas e de animais domésticos como: diarreias infantis,

cólera, ascaridíase, coccidioses etc (GREEBERG, 1970, 1973; LEVINE & LEVINE, 1991; MARCONDES, 2001).

Essa espécie é a mais importante das moscas sinantrópicas, pois é extremamente comum na região urbana (FIGUEROA-ROA & LINHARES, 2004), juntamente com *C.megacephala*. Apresenta resistência à maioria dos inseticidas químicos sintéticos conhecidos, possuindo genes necessários para o desenvolvimento de resistência aos produtos atuais (LEARMOUNT et al., 2002).



Figura 3. *Musca domestica* (Diptera :Muscidae) (<http://bugguidenet/node/view/465514>).

Sua elevada abundância se deve à capacidade de se desenvolver em vários tipos de substratos, possuindo alto poder reprodutivo (MARCHIORI et al., 2000). Percorre distâncias de até 30 km em curto espaço de tempo, se concentrando perto de criadouros de animais, pois suas larvas se alimentam de matéria orgânica em decomposição como esterco, carcaça e matéria vegetal, sendo atraídas de acordo com os odores levados pelo vento (MARCHIORI et al., 2003). Seus ovos são brancos alongados e medem menos de 1 mm, as larvas L1, fazem duas ecdises em 6 a 7 dias. A eclosão ocorre de 8 a 24 horas após a postura dos ovos. Assim que nasce, a neolarva começa a se alimentar do substrato, sofrendo duas ecdises. Quando chega a L3, em sua maioria abandona a dieta e pupa no solo, em temperatura quente o adulto emergirá em 4 ou 5 dias, o ciclo completo leva em média de 10 a 14 dias (MARCHIORI et al., 2003).

1.2. O Ciclo de Vida dos Dípteros Muscóides

As moscas são insetos holometabólicos (Figura 4), que sofrem metamorfose completa. Seus imaturos são diferentes da forma adulta que possui asa, tanto na aparência como no comportamento, inclusive com relação ao habitat onde vivem. As larvas L₁ realizam geralmente duas ecdises em 6 e 7 dias, transformando-se em L3 (WASILEWSKI, 2005).

Entre o último instar larval e o estágio pupal ocorre um período de transição denominando de pré-pupa, no final do qual ocorre a formação das pupas. O tecido escurece e torna-se mais rígido, ocorrendo também transformações internas (CARVALHO, 1986). As larvas procuram um substrato seco para pupação, enterrando-se no solo por um período de aproximadamente uma semana. O pupário fica em forma de barril, o qual vai se tornando mais escuro (MARCONDES, 2001; COSTA et al., 2004a). A respiração é realizada através de espiráculos, situada entre o quinto e o sexto segmento em *M. domestica* e apresentando outras formas em outras espécies (NEVES, 2004). Após 5 ou 6 dias, os adultos emergem do pupário por um opérculo circular com o auxílio do ptilíneo, numa bolsa localizada acima da região onde são implantadas as antenas, que após a emergência se retrai e forma a fissura ptilineal, em forma de U invertido (MARCONDES, 2001). Em condições ótimas de temperatura e umidade do ar, o ciclo evolutivo total se completa em até 23 dias (MACHADO & RODRIGUES, 2002).

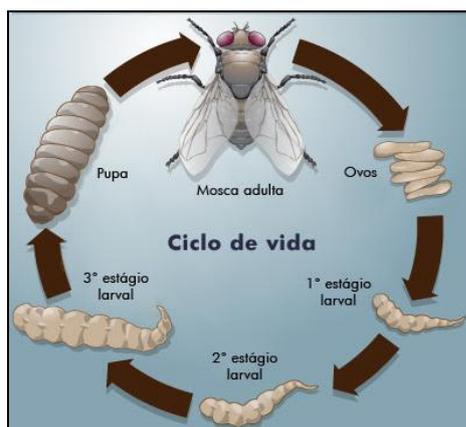


Figura 4. Ciclo de vida das moscas (<http://ciencia.hsw.uol.com.br/mosca4.htm>).

2. Métodos de Controle

2.1. Controle Biológico

O controle biológico é um fenômeno natural, o qual consiste no controle do número de plantas e animais pelos seus inimigos naturais ou introduzidos. Este tipo de controle consiste na utilização de diferentes ferramentas a fim de conter a multiplicação dos insetos, de uma forma que não agrida o meio ambiente, não interfira no desenvolvimento de outros grupos de seres vivos e, principalmente que não deixe resíduos ambientais. Esses controladores biológicos são definidos como: a) parasitóides, que são seres vivos que parasitam outros seres interrompendo a fase reprodutiva deles. O parasitoide se desenvolve dentro de um único hospedeiro, levando no final do seu ciclo o hospedeiro a morte; b) predadores são organismos que buscam e matam suas presas para completar seu ciclo de vida; c) patógenos são organismos microscópicos que podem se multiplicar no organismo do seu hospedeiro, causando infecções e complicações.

O controle biológico pode ser dividido em: 1) controle biológico artificial: interferência artificial de forma que ocorre aumento de seres predadores, parasitoides ou agentes patogênicos, sendo eles seres vivos mais atuantes no controle biológico natural como insetos, fungos, vírus, bactérias, nematoides e ácaros, 2) controle biológico clássico: introdução por meio de importação e colonização de predadores ou parasitoides, focando ao controle de pragas exóticas, ocasionalmente nativos. A liberação é realizada com um número reduzido de indivíduos por algumas vezes no local, como uma medida de controle a longo prazo, pois a população dos inimigos naturais tende a aumentar com o passar do tempo e, portanto, somente se aplica a culturas específicas como semiperenes ou perenes, 3) controle biológico natural, é quando a população de inimigos naturais que ocorrem naturalmente no local, responsáveis pela mortalidade natural no agroecossistema e, conseqüentemente, pela manutenção de um nível de equilíbrio das pragas e 4) controle biológico aplicado, é a liberação em massa de predadores ou parasitoides, após criação laboratorial de larga escala. Esse tipo de controle biológico tem um tipo de ação rápida, muito semelhante à de inseticidas convencionais (PREZOTO et al. 2008; BUENO & VAN LENTEREN, 2011).

Segundo VIEGAS – JÚNIOR (2003), a necessidade de métodos mais seguros no controle de insetos faz com que haja incentivo na busca de novas substâncias ativas de vegetais. Esses inseticidas têm sido cada vez mais usados, pois são obtidos de recursos renováveis e degradados não poluindo ambientes e nem deixando resíduos nos alimentos (VIEIRA et al., 2001). Dentre diversas abordagens, os inseticidas naturais, obtidos a partir da extração de plantas medicinais são, em sua maioria, específicos para os insetos-alvo (JACOBSON, 1975). Além desse tipo de inseticida, podem ser utilizados como forma de controle biológico: os parasitoides, algumas espécies de peixes, pássaros, dentre outros (CARVALHO et al., 2003; CHANDRA et al., 2008).

2.2. Controle com Produtos Naturais

Historicamente, o uso de plantas medicinais é uma das formas mais antiga de controle e muito divulgada culturalmente. Segundo MARTINS (1995), o uso de planta como medicamento tem sido muito utilizado pela população nos últimos tempos e segundo dados da Organização Mundial da Saúde, 80% da população utiliza ervas medicinais e que somente 30% desse uso se dá pela indicação médica.

No Brasil, um dos pontos pesquisados tem sido o uso de plantas medicinais, como inseticidas naturais, que são fáceis de extração, estáveis e de grande aceitação pela população (HOMAR, 2005). Normalmente, são utilizadas espécies de plantas ornamentais, cosmopolitas, com reprodução por mudas, que não exijam cuidados especiais e com grande rendimento do produto, de forma que a área plantada não agrida o meio ambiente. A grande diversidade de espécies vegetais, associada à transmissão do conhecimento passado de geração em geração insere o Brasil no mercado dos fitoterápicos (EVANGELISTA et al., 2013).

Apesar de 25% de a flora mundial ser encontrada no Brasil, o que corresponde a mais de cem mil espécies, menos de 1% teve suas propriedades avaliadas cientificamente para verificar uma ação medicinal (GOTTLIEB & MORS, 1980; CASTILHO et al., 2013). Mesmo considerando um crescimento significativo desse percentual, há uma lacuna de conhecimento da nossa flora. Nesse sentido, isolar, caracterizar e desenvolver bioensaios com substâncias extraídas de plantas, no controle de vetores ou de causadores de doenças apresenta um papel extremamente relevante nas linhas de pesquisa.

Segundo FEINSTEIN (1952), mais de 2000 espécies de plantas são conhecidas no mundo por apresentarem propriedades inseticidas, compreendidas em aproximadamente 170 famílias. A flora brasileira apresenta um imenso potencial para a produção de metabólitos secundários. Estima-se que 16% das 500 mil espécies de plantas que existem no mundo encontram-se na floresta amazônica (PLETSCH & SANT'ANA, 1995). Porém, o estudo científico de substâncias derivadas de plantas brasileiras ainda é muito incipiente.

As plantas produzem inúmeros metabólitos secundários que se acumulam em seus tecidos com a finalidade de defesa contra insetos e outros microrganismos, sendo também atrativos para polinizadores (SIMAS et al., 2004).

Os primeiros inseticidas botânicos utilizados foram a nicotina, extraída da *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) (Solanaceae), a piretrina extraída do piretro *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (crisântemo) (Asteraceae), a rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (falso timbó) (Fabaceae), a sabadina e outros alcaloides extraídos da sabadina *Schoenocaulon officinale* A. (lírio) Gray (Liliaceae) e a rianodina extraída de *Rhynchospora speciosa* (Flacourtiaceae) (LAGUNES & RODRÍGUEZ, 1989). Esses inseticidas deixaram de ser usados com o surgimento dos inseticidas organossintéticos, os quais se mostravam mais eficientes e baratos (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000).

Dentre as plantas que possuem ação inseticida, a mais estudada é a *Azadirachta indica* A. Juss. (Nim) (Meliaceae), conhecida no Brasil como nim ou amargosa. Essa espécie é considerada a mais importante, apresenta uma série de substâncias da classe dos limonoides, dentre os quais a azadiractina é o que ocorre em maior concentração, apresentando maior atividade tóxica contra insetos, sendo encontrada em várias partes da planta, principalmente nas sementes (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000). Estes autores citam que a azadiractina presente na *A. indica* provoca redução e esterilidade de ovos e o cineol, presente em *Eucalyptus* sp. (eucalipto) provoca redução da digestibilidade.

Nos estudos laboratoriais, para avaliar os efeitos das substâncias sobre os insetos, estes normalmente são aplicados sob a forma de aspersão ou imersos por um determinado período nos extratos, nas fases maduras ou imaturas dos insetos, ou ainda aplicados diretamente nas dietas artificiais, ou sobre as presas e os hospedeiros. Nos insetos tratados com os inseticidas botânicos, já foram constatadas diversas alterações

como inibição da alimentação, redução do consumo alimentar, atraso no desenvolvimento, deformações, esterilidade e mortalidade (COSTA et al., 2004a).

Esses efeitos e sua duração dependem da dosagem utilizada, geralmente, sendo possível observar uma maior mortalidade nas dosagens maiores e efeitos mais fracos e duradouros nas dosagens menores (ROEL, 2001).

Alguns estudos desenvolvidos com o extrato etanólico de *Nerium oleander* (loendro) (Apocynaceae) sobre *Muscina stabulans* (Fallen, 1817) (Muscidae), observaram o atraso na duração dos estágios larval e pupal suprimindo a oviposição destes insetos, bem como a redução da taxa de sobrevivência dos adultos (ELSHAZLY et al., 1996).

KELECOM et al. (2002) testaram a ação do ácido oleanólico e o eugenol substância extraída do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) sobre o hemíptero *Rhodnius prolixus* Stål, 1859. Estes testes demonstraram inibição na muda atingindo uma mortalidade de 90% e atividade anti-ecdisise em 100% dos insetos analisados.

MELLO et al. (2010) realizaram estudos para verificar o efeito do látex bruto diluído de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (coroa de Cristo) (Syn. *Euphorbia milli* – ZANI et al., 1993) em diferentes concentrações sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Megaselia scalaris* (Loew, 1866) (Diptera: Phoridae), e observaram que houve uma redução na viabilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento, acelerando a duração de desenvolvimento de cada estágio em relação ao grupo controle (sem a substância).

Em dípteros, a lignana beta-peltatin- A- metil éter isolada do cedro (*Libocedrus bidwillii*), árvore de grande porte pertencente à família Cupressaceae, demonstrou eficácia tóxica na concentração de 100ppm, causando 98% de mortalidade em *M. domestica* (Diptera: Muscidae) (RUSSEL et al., 1976).

Os frutos de *M. azedarach* são conhecidos por conterem o alcalóide azaridina, taninos e ácidos benzoicos. Dentro deste contexto foi verificado que o extrato de cinamomo (*M. azedarach*) tem sido muito eficiente no controle de insetos praga como *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Arctiidae) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Acrolepiidae), causando mortalidade, redução no consumo foliar, redução na porcentagem de eclosão de larvas e prolongamento do período larval (McMILLIAN et al., 1969; RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, 1995; CHEN

et al., 1996), além de serem responsáveis pelos efeitos na produção de oocistos em caprinos infectados naturalmente com espécies de *Eimeria* (ARAÚJO et al., 2009)

FERREIRA et al. (2006) avaliaram a ação inseticida e repelente de extratos hexânico e clorofórmico de *Asclepia curassavica* L. (cipó-de-leite) (Asclepiadaceae) sobre adultos de *M. domestica*. Os dois extratos testados apresentaram atividade inseticida, porém, o extrato com clorofórmio foi o mais ativo em concentrações mais baixas. AHMED et al. (1981) verificaram que o extrato aquoso do pó da folha e da haste da planta *Tylophora indica* (Burm. F.) (salsaparrilha) Merr. possui eficácia contra larvas de *M. domestica*, com mortalidade de até 78%, na concentração de 10%. Outros potentes extratos são os metanólicos de *Tapura amazonica* Poepp. (raiz) (morrão), *Piper aduncum* L. (sagu) (folha e raiz) e *Piper tuberculatum* Jacq. (folha, fruto e galho) (pimenta-dalha) que também mostraram possuir alta atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (POHLIT et al., 2004).

2.2.1. Óleos Essenciais

Os metabólitos sintetizados pelos seres vivos são divididos em primários e secundários. Segundo CASTRO et al. (2004), a biossíntese dos metabólitos secundários é realizada por rotas bioquímicas específicas do organismo, possuindo estreita relação entre essas e as responsáveis pelos metabólitos primários. Os compostos obtidos do metabolismo primário, como a glicose, são usados como precursores dos metabólitos secundários. Porém, esses têm sua origem a partir de intermediários do metabolismo primário da glicose: o acetato (Acetil-CoA), ácido chiquímico, ácido mevalônico e metileritrol fosfato (DEWICK, 2002).

Os óleos essenciais têm distribuição restrita a alguns grupos taxonômicos do Reino vegetal, e ecologicamente atraem polinizadores ou agem quimicamente contra pragas e patógenos, sendo amplamente utilizados há séculos (CHAGAS, 2004; ESTRELA et al., 2006). Os princípios ativos utilizados comercialmente, em geral, pertencem a essa classe de metabólitos, sendo estes responsáveis pela ação farmacológica determinada. Esses produtos incluem uma gama de substâncias químicas como alcaloides, fenólicos (fenilpropanoides e flavonoides), óleos essenciais (incluindo terpenoides) e cristais de oxalato de cálcio. A presença de alguns destes constituintes pode caracterizar famílias inteiras ou grupos de famílias de angiospermas, sendo crucial

para o entendimento do processo coevolutivo das plantas e de seus predadores (RAVEN et al., 1996; SILVA et al., 2003).

Os óleos essenciais (OE), também são chamados de óleos voláteis ou óleos etéreos. De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis e lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanoides, preponderando os terpenoides (GONÇALVES et al., 2003; SILVA et al., 2003). As atividades inseticidas do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) vêm sendo estudadas em pragas agrícolas e em insetos vetores (REITZ et al., 2006; ISHII et al., 2010). Esse composto tem mostrado ser um excelente larvicida e repelente de diferentes espécies (SOUSA et al., 1991).

De acordo com MULLER-RIEBAU et al. (1997), podem ocorrer variações na composição dos óleos essenciais devido a fatores como: variação sazonal, diferenças na região de origem, método de extração adotado e a parte da planta utilizada. Alguns estudos mostraram que vários fatores bióticos e abióticos podem interferir nos componentes dos óleos como, por exemplo, a correlação entre a altitude que envolve a incidência da radiação UV e a diminuição das temperaturas que favoreceu a síntese de compostos metabólitos. Segundo CASTRO et al. (2004), plantas da mesma espécie, mas de regiões diferentes variam na sua constituição genética e atividade fisiológica, podendo responder de modo muito diferente a dado grau de tensão ambiental. Da mesma forma, plantas de origens geográficas diferentes, mas cultivadas nas mesmas condições ambientais, podem variar seus constituintes químicos e o rendimento do óleo essencial. A diversidade genética envolve, portanto, o metabolismo dos organismos e seus produtos.

Estudos realizados com os constituintes dos óleos essenciais em variedades de manjeriço identificaram como compostos majoritários metil chavicol, linalol, geranial e estragol (SAJJADI, 2006; OTTAI et al., 2012). Estes estudos demonstraram que os óleos essenciais extraídos das folhas e dos ápices com inflorescência do manjeriço variam de acordo com a constituição genética da planta e a localização geográfica. (MARTINS et al., 2010).

Foi demonstrado no trabalho de GANZERA et al. (2008), com extrato de arnica (*Arnica montana* L) de cultivares coletados em nove altitudes diferentes que não foi possível detectar aumentos significativos no conteúdo dos flavonoides, havendo correlação positiva entre o aumento na altitude e no conteúdo de ácido cafeico e

derivados (SPITALER et al., 2008). RYAN & ROBARDS (1998) relataram que a planta de onde se extrai o azeite de oliva plantada em altitudes elevadas apresenta uma quantidade maior de compostos fenólicos e tocoferol, o que garante uma melhor qualidade do azeite por apresentar uma maior resistência à oxidação. CIMANGA et al. (2002) observaram que o rendimento de alguns óleos de plantas aromáticas coletadas na República Democrática do Congo, quando comparados com o rendimento das mesmas espécies de plantas de outras regiões do mundo era diferente, e que isso se deve aos fatores como clima, a natureza do solo, idade da árvore, hora da coleta, modo de extração etc.

Os óleos essenciais apresentam efeitos diferentes sobre os insetos; o principal é que eles são capazes de bloquearem as passagens de ar (os espiráculos), através do qual os insetos respiram, causando-lhes a morte por asfixia. Podem atuar também como venenos quando interagem com os ácidos gordos dos insetos e interferem com o metabolismo normal, interrompendo também a alimentação do inseto, como por exemplo, interferindo na transmissão de alguns vírus de plantas por pulgões (CRANSHAW & BAXENDALE, 2013). Atualmente algumas espécies vegetais como o *Cymbopogon citratus* e o *Pinus caribaea* têm sido identificadas por seus óleos apresentarem propriedades bioinseticidas, inibindo a alimentação e bloqueando o crescimento de insetos. Alguns compostos naturais ecoquimicamente ativos que têm sido pesquisados para o controle de insetos são o Citral em *C. citratus* e o cariofileno em *P. caribaea*.

2.2.1.1. Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus* (Família Poaceae)

A família Poaceae apresenta distribuição cosmopolita, possuindo 600 gêneros e aproximadamente 9000 espécies (FOLORUNSO & OYETUNJI, 2007), essas espécies são essencialmente herbáceas, denominadas genericamente de gramíneas. Segundo FILGUEIRAS (2013) existem 210 gêneros, 1414 espécies e 16 subespécies distribuídas por todo o Brasil.

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf (Poaceae) (Figura 5), cujo nome popular nacional mais utilizado é capim-limão e conhecido internacionalmente como lemongrass. É uma espécie originária da Índia e Sudeste Asiático; distribuída por vários países tropicais, entre eles o Brasil, onde assume diferentes sinonímias conforme a região onde se encontra. Nas regiões do Brasil são chamados da seguinte maneira:

capim-limão - Minas Gerais; capim santo - Bahia; erva-cidreira - São Paulo e outros como: capim-catinga, capim-de-cheiro, capim-cidrão, capim-cidilho, capim-cidro e capim-ciri. Na parte ocidental de Cuba se chama caña santa e na parte oriental limoncillo ou yerba de calentura. No Brasil *C. citratus* apresenta vários sinônimos dentre eles *Andropogon ceriferus* Hack, *Andropogon citratus* DC, *Andropogon citriodorum* Hort x Desf., *Andropogon mardus* subesp. *Ceriferus* (Hack) Hack, *Andropogon roxburghii* Nees ex Steud, *Andropogon schoenanthus* L., *Cymbopogon nardus* subvar. *citratus* (DC.) Roberty (FILGUEIRAS, 2013).



Figura 5. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Poaceae)
http://www.webphotos.com.au/photo_browse.aspx?search=grass

2.2.1.1.1. Propriedades organolépticas

O óleo se apresenta na cor amarela e possui odor aromático agradável, característico de limão; e sabor ardente (FARMACOPÉIA, 2010; COSTA, 2000; AKISUE et al.,1996).

Descrição Botânica:

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Liliopsida (Liliatae)

Ordem: Poales

Família: Poaceae (Gramineae)

Subfamília: Panicoidae

Gênero: *Cymbopogon*

Espécie: *Cymbopogon citratus* (DC) STAPF

2.2.1.1.2. Descrição Macroscópica

É uma planta perene, frondosa, robusta, com rizomas curtos e colmos simples ou ramificados, eretos, espessos e lisos que crescem formando touceiras de 1-2 m de altura. Possui numerosas folhas de formato lanceolado, planas, eretas e alternas com bainha larga e nervação paralela, com epiderme uniestratificada com células parenquimáticas e lignificadas.

2.2.1.1.3. Estudos Fitoquímicos

A essência do capim-limão é uma das mais importantes e isto se deve ao fato de esta espécie apresentar em seu óleo essencial três componentes principais: Mirceno, geranial e neral (CZEPAK & CRUCIOL, 2003). A designação de capim-limão foi dada a espécie botânica devido à semelhança com o odor do limão, conferido pelo seu elevado teor de Citral (ROGERS, 1981). Sua essência é comercialmente importante para as indústrias de perfumes, cosméticos e alimentos, sendo essa uma das razões dos vários estudos fitoquímicos em seus constituintes voláteis. Esse óleo tem sido usado também como feromônio artificial para captura de enxames (CARVALHO et al., 2005). O seu componente mais importante é o Citral (47 e 85%), sendo esse monoterpene uma mistura de isômeros, geranial (α -Citral), e neral (β - Citral), estando, em menor quantidade o Mirceno (SIDIBE et al., 2001). Em menor quantidade já foram observados outros componentes tais como: canfeno, citronelal, citronelol, farnesol, geraneol, limoneno, linalol, mentol, α -pineno, β -pineno e terpineol. Segundo SOUZA et al. (1991), existem dois tipos de óleo essencial de *C. citratus* que são distinguidos pela composição química dos constituintes Mirceno e Citral. O óleo essencial de *C. citratus* chamado “West Indian” é caracterizado pela alta concentração de ambos os monoterpenos, sendo o Mirceno em torno de 38% e o Citral cerca de 47%. O outro tipo chamado de “East Indian” apresenta menor concentração de Mirceno (0 a 12%), e o Citral pode atingir (86%) do extrato. De acordo com (BARBOSA et al., 2008), doze amostras brasileiras analisadas por CG/EM (Cromatografia gasosa/Espectrômetro de massa) mostraram a presença de 22 substâncias, sendo neral e geranial os principais constituintes com variações de 40,7 a 75,4%. Porém em *C. citratus* coletado na Etiópia, o principal componente foi o geraniol com 40% do óleo (ABEGAZ & YOHANNES, 1983). Os óleos originários do Marrocos têm como constituintes principais geranial (39,8%) e neral (32%) (IL DIRSSI et al., 1993). Nos

coletados na Zâmbia e no Zimbábue foram encontrados predominantemente o geranial e o neral, e em menor quantidade o Mirceno (CHISOWA et al., 1998; CHAGONDA et al., 2000). No óleo essencial da Nigéria foram encontrados os seguintes componentes geranial (40,9%), neral (29,7%), Mirceno (11,3%), linalool (1,7%) e acetato de geranila (1,6%) (OWOLABI et al., 2008). A melhor hora de se coletar *C. citratus* é no período entre 8 e 13 horas, horário de maior concentração do Citral, além desses outros fatores que influenciam nessas concentrações é: as altas temperaturas, período de estocagem, métodos e tempo de extração do óleo, variações climáticas, além do solo (NASCIMENTO et al. (2003).

2.2.1.2. Óleo Essencial de *Pinus caribaea* (Família Pinaceae)

Pinus caribaea Morelet (Pinaceae) (Figura 6), conhecido vulgarmente como pinheiro macho, é uma espécie de pinheiro originária do Novo Mundo, com distribuição na América Central, Caraíbas, México, Cuba, Bahamas, Belize, Guatemala, Nicarágua e sul do Arizona. Os principais nomes comuns dados à espécie nestas localidades são: "pino de la costa, ocote blanco, pino caribe e pino caribeño de Honduras". Já na língua inglesa é chamado de "caribbean pine" ou "pitch pine".

Os pinheiros são plantas perenes que produzem resinas. A casca da maioria dos pinheiros é grossa e escamosa e seus brotos são produzidos em inflorescências regulares, que de fato são uma espiral muito apertada aparentando um anel de brotos que surgem do mesmo ponto. O pinheiro é importante devido a sua produção de madeira nas regiões temperadas e tropicais do planeta, sendo utilizados como matéria-prima para a produção da celulose, que é empregada na produção de papel. A queda de suas folhas (acícula) produz um efeito alelopático em plantas de outras espécies, inibindo o crescimento de ervas daninhas. Algumas espécies produzem o breu do qual se extrai terebintina e outros óleos essenciais (VASCONCELOS, 2007).



Figura 6. *Pinus caribaea* Morelet (Pinaceae)
(<http://www.natureloveyou.sg/Pinus%20caribaea/DSC09350%20>)

2.2.1.2.1. Propriedades Organolépticas

Os óleos essenciais do gênero *Pinus* possuem odores característicos, como o mentol e a cânfora que são muito conhecidos devido a sua utilização em unguentos. Esses também podem ser usados mediante mesclas de outros produtos essenciais, como a menta, romero, trementina etc. Essas essências são usadas para aplicações antirreumáticas (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, 2013).

Descrição Botânica

Reino: Plantae

Divisão: Pinophyta

Classe: Pinopsida

Ordem: Pinales

Família: Pinaceae

Gênero: *Pinus*

Espécie: *Pinus caribaea* Morelet

2.2.1.2.2. Descrição Macroscópica

A espécie *P. caribaea* é uma árvore de até 45 m de altura com um tronco único, ereto, possui casca áspera, escamosa, cinza, marrom e resistente ao fogo. Suas folhas (agulhas) são leves ou verde-escuro, geralmente de 15 a 26 cm de comprimento, e agrupados em fascículos (grupos) de 2 ou 3 (raramente até 5) agulhas. Estruturas masculinas e femininas chamadas de cones ocorrem na mesma árvore. Os cones (machos) de pólen-rolamento são cilíndricos, medem de 2-3 cm × 5-6 mm, e de cor rosa ou amarelo. Os cones de sementes são principalmente em pares ou em espirais e transmitidas em pedúnculos longos (caules). Os cones fêmeas levam até dois anos para

amadurecer, e lançar sementes aladas que são dispersas pelo vento (FARJON & STYLES, 1997).

2.2.1.2.3. Estudos Fitoquímicos

O óleo essencial do gênero *Pinus* geralmente possui de dez a quinze componentes majoritários, sendo os outros componentes vestígios. A quantidade e o tipo de componentes podem mudar dentro da mesma espécie botânica por vários motivos como: luz, temperatura, altitude, época da colheita, variedades químicas etc (RIOS et al., 2007; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, 2013). Os óleos provenientes das folhas (agulhas), secas ou frescas, são abundantes em limoneno e óxido de cariofileno. Existe diferença entre a qualidade e quantidade dos óleos extraídos das folhas secas e frescas; as secas produzem um óleo com maior quantidade e diversidade (CHOWDHURY et al., 2008). No entanto, FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al. (2013) após extração do óleo essencial de *P. caribaea* pelo método de hidrodestilação com um aparelho do tipo “Clevenger” observaram um outro composto chamado acetato de 15 em-8-β-alil-Sandaracopimar.

ROJAS & ORTIZ (1990) e INAB (1999) ao extraírem o extrato bruto de folhas verificaram que ele apresentava características de resina com pH em torno de 3, atribuível ao ácido fenólico e o extrato da casca produzia procianidinas. Essa resina é de boa qualidade para a produção de aguarrás e outros produtos (ROJAS, ORTIZ, 1990; INAB, 1999).

2.3. Solventes Utilizados para a Obtenção dos Extratos Vegetais.

Os principais solventes utilizados nos inseticidas são a água, acetona, éter e álcoois, benzeno, clorofórmio, acetato de etila, DMSO, metanol, etanol etc., dependendo da planta utilizada e também dos produtos que se quer obter. Eles são capazes de determinar diferentes resultados finais na atuação inseticida (COSTA et al., 2004b). A maioria dos solventes que são utilizados é de origem orgânica. São substâncias capazes de dissolver outras substâncias e formar uma solução, sendo utilizadas como diluentes dispersantes ou agentes de solubilização. Como características comuns a todos esses solventes, podemos citar que são todos voláteis, inflamáveis, lipossolúveis e lipofílicos. A sua toxicidade varia conforme a molécula ou a mistura utilizada, tendo uma aplicação variada em nosso cotidiano. Didaticamente são divididos

em: hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos ou halogenados; álcoois; cetonas; éteres e outros.

O dimetil sulfóxido (DMSO) é um solvente muito usado, tanto em aplicações tópicas quanto intravenosas, como antiinflamatório, analgésico, criopreservativo, carreador de substâncias e medicamentos através da pele e membranas biológicas, promove a remoção de radicais livres, ativação ou inibição de várias enzimas. O DMSO apresenta baixa toxicidade, dependendo das substâncias usadas conjuntamente com o medicamento. Se as substâncias usadas promoverem toxicidade ao organismo, o DMSO facilita sua penetração trazendo graves riscos à saúde. É um solvente aprótico, bipolar e altamente hidrocópio. É considerado atrópico, pois não pode doar seus prótons em ligações químicas, podendo agir como um “receptor” de prótons em ligações de hidrogênio, sendo essa ligação responsável por sua afinidade com a água. DMSO é considerado um solvente melhor que a água para muitas substâncias como proteínas e esteroides. Também possui baixa toxicidade, possivelmente o seu maior potencial tóxico é a combinação com outros agentes tóxicos (STURION et al., 1999). Segundo BRAYTON (1986) e RICHARDSON (1973), dentre as propriedades e efeitos fisiológicos e farmacológicos do DMSO estão (a) à rápida e acentuada penetração de outras substâncias pelas membranas biológicas; ele penetra facilmente na pele; em 5 minutos pode ser detectado no sangue e a halitose característica é evidente, e após 20 minutos pode ser encontrado em todos os órgãos do corpo. Ao contrário da maioria dos solventes penetrantes, a penetração ou absorção não está associada com dano irreversível da membrana; (b) a inibição ou ativação de várias enzimas sendo esse efeito dependente das diferentes concentrações do hidrogênio; (c) possuindo também atividade antimicrobiana, se tornando bactericida ou bacteriostático contra *Mycobacterium tuberculosis* (Mycobacteriaceae), *Staphylococcus* spp. (Staphylococcaceae), *Streptococcus* spp., (Streptococcaceae), *Salmonella* spp. (Enterobacteriaceae), *Proteus* spp., *Escherichia coli*, (Migula, 1895) (Enterobacteriaceae) em concentrações de 5 a 50%. Em quimioterapia antiviral, tem sido usado como veículo para vários agentes antivirais no tratamento de *Herpes zoster*.

Em experimentos que avaliam as propriedades inseticidas, fungicidas e bactericidas os solventes têm sido usados na solubilização dos compostos com baixa polaridade (GONÇALVES-GERVÁSIO & VENDRAMIM, 2004; INOUE et al., 2005; KUKIĆ et al., 2008), e com média polaridade. Estes compostos têm sido usados como

herbicidas ou em preparações de produtos que apresentam efeitos inibidores no desenvolvimento de certas espécies de plantas (STAHLMAN et al., 1997); todavia, quando extratos orgânicos são usados em experimentos toxicológicos, é importante levar em consideração a toxicidade do solvente usado como solubilizante sobre o organismo alvo, pois é sabido que os resíduos dos solventes podem interagir com os organismos alvos causando a morte dos mesmos ou interferindo nos resultados (HAMMER et al., 1999; NASCIMENTO et al., 2008). CHAGAS et al. (2002) observaram que os óleos essenciais quando transformados em óleos emulsionados tinham sua potencialidade aumentadas quando testados sobre larvas de carrapatos. SOUZA et al. (2007) testando extratos metanólicos e etanólicos de *Annona coriaceous* (araticum) Mart. (Annonaceae) sobre ninfas de *Dichelops melacanthus* Dallas, 1851 (Heteroptera: Pentatomidae), dissolvidas em DMSO (40%) e extratos dissolvidos em Tween (1:1), não observaram nenhum efeito negativo nos insetos. KANNATHASAN et al. (2008), ao testarem ester metílico de ácido graxo de *Vitex altissima* L., *Vitex negundo* L. e *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae) (Maria preta) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) não encontraram nenhuma toxicidade quando testaram DMSO a 5%. Os mesmos resultados foram encontrados por ROEL et al. (2000) e CUNHA et al. (2006) quando usaram acetona como solvente e não observaram nenhum efeito deletério sobre o grupo controle. O que foi verificado por TRINDADE et al. (2000) que usaram metanol como agente solubilizante.

ROEL et al. (2000) ao testarem quatro solventes para obtenção do extrato de catiguá (*Trichilia pallida*, Swartz) (Meliaceae), verificaram que os extratos produzidos por acetona possuíam uma maior ação inseticida sobre a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). ABOU-FAKHR HAMMAD et al. (2001) verificaram que os extratos aquosos e metanólicos de cinamomo (*Melia azedarach*) possuíam praticamente os mesmos efeitos sobre adultos da mosca-branca (*Bemisia tabaci*, Gennadius 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), indicando eficiência similar dos solventes na extração dos componentes ativos da planta. Segundo HERNÁNDEZ & VENDRAMIM (1997), o uso de extratos aquosos, para obtenção de compostos hidrossolúveis presentes nos vegetais, pode ser uma maneira natural e econômica de manejo de insetos.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Avaliar a sua atividade inseticida sobre o desenvolvimento pós-embrionário de quatro espécies de Dipteros muscoides.

Objetivos específicos:

- Caracterizar a composição química dos óleos essenciais de *C. citratus* e *P. caribaea* coletados no Brasil e em Cuba;
- Analisar as alterações produzidas pelos óleos essenciais *C. citratus* e *P. caribaea*, e seus compostos majoritários: Citral e Cariofileno, respectivamente sobre o peso larval, a duração dos períodos larval, pupal e fase de neolarva a adulto, mortalidade, razão sexual e deformidades de *Chrysomya putoria*, *Chrysomya megacephala*, *Lucilia cuprina* e *Musca domestica*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEGAZ, B.; YOHANNES, P. G. Constituents of the essential oil of Ethiopian *Cymbopogon citratus* Stapf. *J Nat Prod*, v. 46, p. 424-426, 1983.
- ABOU-FAKHR HAMMAD, E. M.; ZOUR NAJIAN, H.; TALHOUK, S. Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly *bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*, Berlin, v. 125, n. 8, p. 483 – 488, 2001.
- AHID, S. M. M. *Apostila Didática. Entomologia Veterinaria*. UFERSA (Universidade Federal Ruaral do Semi-Árido- Ministério da Educação. p 1- 72, 2009.
- AHMED, S. M.; CHANDER, H.; PEREIRA, J. Insecticidal potential and biological activity of Indian indigenous plants against *Musca domestica* L. *International Pest Control*, v.23, p.170-175, 1981.
- AMORIM, D. S.; SILDA, V. C.; BALBI MIPA. *Estado do conhecimento dos Diptera Neotropicais*, In: Costa C, Vanin AS, Lobo JM, Melic A org. Proyecto de Red Iberoamericano de Biogeografia y Entomologia Sistemática. 3m-Monografias Tercer Milenio, Zaragoza, 2002.
- ARAÚJO, S. A. C.; TEIXEIRA, M. F. S.; DANTAS, T. V. M.; MELO, V. S. P.; LIMA, F. E. S.; RICARTE, A. R. F.; COSTA, E. C.; MIRANDA, A. M. Uso dos potenciais de

Melia azedarach L. (Meliaceae): Um levantamento. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.76, n.1, p.141-148, jan./mar., 2009.

BATISTA-DA-SILVA, J. A.; ABÁDIO, H. C.; QUEIROZ, M. M. C. Miíase humana por *Dermatobia hominis* (Linneaus Jr.) (Diptera, Cuterebridae) e *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera, Calliphoridae) em Sucessão Parasitária. *Entomo Brasiliis*. v. 2, n. 2, p. 61-63, 2009.

BARBOSA, L. C. A., PEREIRA, U. A.; MARTINAZZO, A. P.; MALTHA, C. R. A.; TEIXEIRA, R. R.; MELO, E. C. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf samples. *Molecules*, v. 13, p. 1864-1874, 2008.

BARBOSA, L. S.; CUNHA, A. M.; COURI, M. S.; MAIA, V. C. Muscidae, Sarcophagidae, Calliphoridae e Mesembrinellidae (Diptera) Da Estação biológica de Santa Lúcia (Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil). *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão*, v. 33, p.131 – 140, 2014.

CARRIÇO, C.; PINTO, Z. T.; DUTOK, C. M. S.; CAETANO, R. L.; PESSANHA, R. R.; CHIL- NUÑEZ, I.; MENDONÇA, P. M.; ESCALONA – ARRANZ, J. C.; REYES-TUR, B.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). *Rev. Bras. Farma.* v.24, p. 304 – 308, 2014.

CARVALHO, J. B. C.; RAFAEL, A. J.; COURI, S. M.; SILVA, C. V. Diptera Linnaeus, 1758 in: *Insetos do Brasil Diversidade e Taxonomia*, Ed Holos, p. 702 – 752, 2012.

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C. FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Acaricide effect of *Eucalyptus* spp. essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v. 39, p. 247-253, 2002.

CARVALHO, J. P. *Introdução à entomologia agrícola*. Fundação Calouste Gulbenkian, Coimbra, Portugal. 361 p; 1986.

CARVALHO, A. L.; MELLO, R. P.; d' ALMEIDA, J. M. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. *Revista Brasileira de Saúde Pública*, v. 37, n. 6, p. 810-812, 2003.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUZA, J. S.; SILVA, R. H.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 2000.

submetido a diferentes tipos de adubação, *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 5, n. 2, p. 1 -8, 2005.

CARVALHO, J. B. C.; RAFAEL, A. J.; COURI, S. M.; SILVA, C. V. Diptera. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; Carvalho, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. (Organizadores). *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. 1ª. ed. Ribeirao Preto: Ed. Holos, Cap. 40, p. 701 – 743, 2012.

CASTILHO, A. R; MURATA, R. M; PARDI, V. Produtos naturais em Odontologia. *RevistaSaúde*. Disponível em: <<http://revistas.ung.br/index.php/saude/article/viewFile/64/99>>. Acesso em: 24 de outubro de 2013.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários*. 2. ed. Visconde do Rio Branco: UFV, 2004, 113p.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitos utilizando extratos vegetais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* v.13, n. 1, p. 156-160; 2004.

CHAGONDA, L. S.; MAKANDA, C.; CHALCHAT, J. C 2000. Essential oils of cultivated *Cymbopogon winterianus* (Jowitt) and of *C. citratus* (DC) (Stapf) from Zimbabwe. *J Essent Oil Res* v.12, p. 478-480, 2000.

CHANDRA, G.; BHATTACHARJEE, I.; CHATTERJEE, S. N.; GHOSH, A. *Mosquito control by larvivorous fish*. Department of Zoology, n. 127, p. 13-27, 2008.

CHAPMAN, R. F. *The Insects: Structure and Function*. Cambridge University Press. 4th Edition, 788 p., 1998.

CHEN, C. C.; CHANG, S. J.; CHENG, L. L.; HOU, R. F. Effects of chinaberry fruit extract on feeding, growth and fecundity of the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Journal of Applied Entomology*, v.120, p.341-345, 1996.

CHOWDHURY, J. U.; BHUIYAN, M. N. I.; YUSUF, M. Chemical composition of the leaf essential oils *Murraya koenigii* (L.) Spreng and *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, V. 3, n. 2, p. 59 – 63, 2008.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTLÉ, J.; VLIENTINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, p. 213-220, 2002.

- COSTA, F. P. S.; SILVA, R. F. P.; FLUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biológica*, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004a.
- COSTA, V. A.; BERTI FILHO, E.; SILVEIRA NETO, S. Parasitoides de moscas sinantrópicas em aviários de Echaporã, SP. *Arq. Inst. Biol.* v. 71, n. 2, p. 203 – 209, 2004b.
- CRANSHAW, W. S.; BAXENDALE, B. *Insect Control: Horticultural Oils*. © Colorado State University Extension. Insect Series/Home and Garden Disponível em: <http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05569.pdf> Acesso em: 9 de outubro de 2014.
- CUNHA, U. S.; VENDRAMIM, J. D.; ROCHA, W. C.; VIEIRA, P. C. Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. *Pesq. Agropec. Bras.* v.41, p. 1579-1585, 2006.
- CZEPAK, M. P.; CRUCIOL, C. A. C. Produtividade e Composição do Óleo Essencial de Capim-Limão *Cymbopogon Citratus* stapf em Diferentes Arranjos Espaciais. *II Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais*, 113, IAC, Campinas, São Paulo, 2003.
- DEWICK, P. M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. New York, J. Wiley and sons, 2002, 507p.
- DOE, P. E. “*Fish Drying and Smoking*” *Production and Quality*”. CRC Press: p .177, 1988.
- EL-SHAZLY, M. M., NASSAR, M. I.; EL-SHERIEF, H. A. Toxic effect of ethanolic extract of Nerium oleander (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera-Muscidae). *Journal Egypt Society Parasitology*, v. 26, p. 461-473, 1996.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, n. 2, p. 217-222, 2006.
- EVANGELISTA, S. S.; SAMPAIO, F. C.; PARENTE, R. C.; BANDEIRA, M. F. C. L. Fitoterápicos na odontologia: estudo etnobotânico na cidade de Manaus. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 4, 2013
- FARJON, A.; STYLES, B. T. Monograph of *Pinus*. *Flora Neotropica*, v. 75, p. 85-91, 1997.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. ANVISA. 5ª Ed, Brasília. v. 1, p. 189-204, 2010.
- FEINSTEIN, L. *Insecticides from plants*. In: *Insects: The Year Book of Agriculture*. U.S.D.A, Washington, DC, 229 p., 1952.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, F.; MARÍN-MORÁN, C. J. E.; PINTO, Z. T.; QUEIROZ, M. M. C.; ESCALONA –ARRANZ; J. C. Evaluación de las condiciones de extracción por hidrodestilación-cohobación del aceite esencial del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* (droga seca). *Revista Cubana de Química*, v.25, n. 1, 2013.

FERREIRA, L. R.; DIERSMANN, E. M.; SANTOS, V. M. R.; MOURA, C. C.; BORJA, G. E. M.; COSTA, J. B. N.; MORAIS, A. A. Verificação da atividade inseticida das folhas de *Asclepia curassavica* (Linnaeus) em *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Rev. Bras. de Agroec.* v.1, n.1, p.1709-1712, 2006.

FIGUEROA-ROA, L.; LINHARES, A. X. Synanthropy of Muscidae (Diptera) in the City of Valdivia, Chile. *Neotropical Entomology*, v. 33, n. 5, p. 647-651; 2004.

FILGUEIRAS, T. S.; LONGH-WAGNER, H. M.; VIANA, P. L.; ZANIN, A.; GUGLIERI, A.; OLIVEIRA, R. C.; CANTO-DOROW, T. S.; SHIRASUNA, R. T.; VALLS, J. F. M.; OLIVEIRA, R. P.; RODRIGUES, R. S.; SANTOS-GONÇALVES, A. P.; WELKER, C. A. D. *Poaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2013/FB000193>. Acesso 02/03/2013.

FOLEY, D. H.; RUEDA, L. M.; WILKERSON, R. C. Insight into global mosquito biogeography from country species records. *Journal of Medical Entomology*, Lanham, v. 44, n. 4, p. 554-567, 2007.

FRANCESCONI, F.; LUPI, O. *Myiasis*. *Clinical Microbiology Reviews*, Kansas, v. 25, n. 1, p. 79-105, 2012.

FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÄRSI, C. M.; BURALLI, G. M.; ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. *Rev. Microbiol.* v.15, p.170-174, 1984.

GANZERA, M.; GUGGENBERGER, M.; STUPPNER, H.; ZIDORN, C. Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Matricaria chamomilla* cv. bona. *Planta med.* v. 74, p.453-457, 2008.

GOFF, M. L. “*A Fly for the Prosecution*” *How Insect Evidence Helps Solve Crimes*”. Pg. 40. Harvard University Press, p. 225, 2000.

GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J. Distribuição larval radialpós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae) profundidade, distância e peso de enterramento para pupação. *Entomologia y Vectores*, v.10, p. 211-222, 2003.

- GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J. Insetos ajudando a desvendar crimes: Entomologia Forense. *Ciência Hoje*, v. 208, p. 28-31, 2004.
- GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de extratos de meliáceas sobre o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotrop. Entomol.* v. 33, p. 607-612, 2004.
- GONÇALVES, L. A.; BARBOSA, L. C. A.; AZEVEDO, A. A., CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. V. 6, p.8-14, 2003.
- GOTTLIEB, O. R.; MORS, W. B. *Potential utilization of Brazilian wood extractives*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(2):96-215. HARBONE, J. B. 1982. Introduction to ecological biochemistry. 2.ed. London: Academic Press, 318p, 1980.
- GREEBERG, B. Species distribution of new structures on fly antennae. *Nature*, v. 228, p.1338–1339, 1970.
- GREENBERG, B. *Flies and disease*, Vol. II Biology and disease transmission. Princeton Univ. Press, Princeton, v.10, 447 pp., 1973.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; UNHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revta bras. Ent.* v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; BURALLI, G. M. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Rev. Bras. Ent.* v.23, p. 245-255, 1979.
- GUIMARÃES, J. H., PAPAVERO, N., PRADO, A. P. As miíases da região neotropical. *Rev. Bras. Zool.* v.1, p. 239-416, 1983.
- GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. *Myiasis caused by obligatory parasites II. Cochliomyia Townsend (Calliphoridae)*. In: GUIMARÃES, J.H.; PAPAVERO, N. (Ed.) Myiasis in man and animals in the Neotropical region. São Paulo: *Plêiade*, p. 97-165, 1999.
- HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and others plants extracts. *J. Appl. Microb.* v. 86, p. 985-990, 1999.
- HERNÁNDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliceae sobre *Sodoptera frugiperda*. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, V. 72, n. 3, p. 305 – 318, 1997.

HOMAR, J.C. Medicinas complementarias ou alternativas? Un dilema para el sistema público. *Atención Primaria*, v.35, p.389-391, 2005.

HOPE, F. W. On insects and their larvae occasionally found in the human body. *Transactions of the Entomological Society of London*, Londres, v. 2, p. 256-271, 1840.

IMBIRIBA, A. S.; D. T. IZUTANI; I. T.; MILHORETO, LUZ, E. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tec.* v. 20, p.35-39, 1977.

INAB. Pino Caribe. *Ficha técnica de especies* No. 2. Instituto Nacional de Bosques, Guatemala, 1999.

INOUE, Y.; HADA, T.; SHIRAIISHI, A.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H.; KOBAYASHI, S. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone, and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* v. 49, p. 1770- 177, 2005.

ISHII, T.; MATSUZAWA, H.; VAIRAPPAN, C. S. Repellent activity of common spices against the rice weevil, *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae). *J Trop Biol Conserv.* v. 7, p.75–80, 2010.

JACOBSON, M. Insecticided from plants: *A Review of the literature*. Agricultural Handbook. Department of Agriculture, Washington, n. 38, p. 954-971, 1975.

KANNATHASAN, K.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V.; CHANDRASEKARAN, M. Larvicidal activity of fatty acid methyl esters of *Vitex* species against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitol. Res.*, v. 103, p. 999-1001, 2008.

KELECOM, A; GOUVEA, R. C. S.; SANTOS, P. L. Levels of 210Po and 210Pb in cigars. *Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 253, p.129 -133, 2002.

KUKIĆ, J.; POPOVIĆ, V.; PETROVIĆ, S.; MUCAJ, P.; ĆIRIĆ, A.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. *Food Chem.* v. 107, p. 861-868, 2008.

LAGUNES, T. A.; RODRÍGUEZ, H. C. *Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas*. Chapingo: CONACYT – CP, 1989. 150 P. (Informe Final del Proyecto CONACYT/PVT/AI/NAL/85/3149).

LEARMOUNT, J.; CHAPMAN, P.; MACNICOLL, A. A Impact of Insecticide Resistanc Estrategy for house fly (*Musca domestica*) control in intensive animal Units in the United Kingdom. *J. Econ. Entomol.* v. 95, n. 6, p. 1245-1250; 2002.

- LIMA, M. L. P. S.; LUZ, E. Exotic species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) as vectors of pathogenic enterobacteria in Curitiba, Paraná, Brasil. *Acta Biologica Paranaense*, v.20, n. 1/4, p. 61-83, 1991.
- LINDSAY, T. C. D.; ALESSANDRO, U.; PINDER, M.; JAWARA, M.; LINDSAY, S. W. Development of odour-baited flytraps for sampling the African latrine fly, *Chrysomya putoria*, a putative vector of enteric diseases. *Plos One*, v. 7, n. 11, p. 505 - 510, 2012.
- MACHADO, M. L. S.; RODRIGUES, E. M. P. Emprego do nitenpyram como larvicida em míases caninas por *Cochliomyia hominivorax*. *Acta Sci. Vet.* v. 30, n. 1, p. 59 – 62, 2002.
- MARCHIORI, C. H.; CASTRO, M. E. V.; PAIVA, T. C. G.; TEIXEIRA, F. F.; SILVA, C. G. Dípteros muscides de importância médica e veterinária e seus parasitas em Goiás. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 52, n. 4, p. 215-220; 2000.
- MARCHIORI, C. H.; CALDAS, E. R.; ALMEIDA, K. G. S.; LINHARES, A. X. Muscoid dipterous collected from cattle dung pats in pastures in Itumbiara, Goiás, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 55, n. 1, p. 69-72; 2003.
- MARCONDES, C. B. *Entomologia médica*, Rio de Janeiro, Atheneu, 432 p, 2001.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. *Plantas Mediciniais*. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 220p, 1995.
- MARTINS, A.G. L.A.; NASCIMENTO, A.R.; FILHO, J.E.M.; FILHO, N.E.M.; SOUZA, A.G.; ARAGÃO, N.E.; SILVA, D.S.V. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfices. *Ciência Rural*, v.40, n.8, p.1791-1796, 2010.
- MCALPINE, J. F. 1981. *Morphology and terminology: adults*, p. 9-63. In: MCALPINE, J.F.; B.V. PETERSON; G.E. STESKEY, H. J.; VOCKEROTH, J. R.; WOOD, D.M. (Eds). *Manual of Nearctic Diptera*. Ottawa, Research Branch, Agriculture Canada, Monograph, v. 27, n. 1, 674p, 1981.
- MCALPINE, J. F. 1987. *Rhinotoridae*. In J. F. MCALPINE, B. V. PETERSON, G. E. SHEWELL, H. J. TESKEY, J. R. VOCKEROTH; D. M. WOOD (eds.). *Manual of Nearctic Diptera*, v 2. Monogr. Research Branch Agriculture Canada, Ottawa, pp. 989–992.
- MCMILLIAN, W. W., BOWMAN, M. C.; BURTON, R. L.; STARKS, K. J.; WISEMAN, B. R. Extract of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant

for larvae of the corn earworm and fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* v.62, p. 708-710, 1969.

MELLO, R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.

MELLO, R. S.; FERREIRA, A. R. S.; QUEIROZ, M. M. C. Bioactivity of latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (Euphorbiaceae) on post-embryonic development of *Megaselia scalaris* (Phoridae). *Veterinary Parasitology*, v. 172, n. 1/2, p. 100-104, 2010.

MORAIS; M. C.; SANAVRIA, A.; BARBOSA, C. G.; SILVA, H. M. Alterações clínicas em bovinos infestados experimentalmente com larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 4, p. 154-158, 2003.

MORETTI, T. C.; THYSSEN, P. J. Mííase primária em Coelho doméstico causada por *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil: relato de caso, *Arq bras. Med. Vet. Zootec*, v. 58, n. 1, p. 28 – 30, 2006.

MULLER-RIEBAU, F. J.; BERGER, B. M.; YEGEN, O.; CAKIR, C. Seasonal variation in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing in Turkey. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.45, p. 4821-4825, 1997.

NASCIMENTO, I. B. do; INNECCO, R; MARCO, C. A; MATTOS, S. H; NAGAO, E. O. Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo. *Revista Ciência Agronômica*, v. 34, n. 2, p. 169-172, 2003.

NASCIMENTO, F. R.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; LIMA, R. K.; SALGADO, A. P. S. P.; GUIMARÃES, L. G. L. The effect of Long-pepper essential oil (*Piper hispidinervum* C. DC.) and of Tween® 80 emulsifier on the mycelial growth of *Alternaria alternate* (Fungi: Hyphomycetes). *Acta Amaz.*, v. 38, p. 503-508, 2008.

NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. ed. Atheneu, São Paulo. p. 309-310; 350-358; 2004.

OLIVEIRA, V. C.; MELLO, R. P.; D'ALMEIDA, J. M. Dípteros muscóides como vetores mecânicos de ovos de helmintos em jardim zoológico, *Brasil. Rev. Saúde Pública*, v.36, p.614-620, 2002.

OLIVEIRA - COSTA, J. *Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios*. 1 ed. Tratado de Pericias Criminalistas: 3ª ed. Campinas. Ed. Millennium, 520 p., 2011.

- OTTAI, M. E. S.; SAYEDA S. A.; EL DIN, M. M. Genetic Variability Among Some Quantitative Characters, Insecticidal Activity and Essential Oil Composition of Two Egyptian and French Sweet Basil Varieties. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, v.6, n.3, p.185-192, 2012.
- OWOLABI, M. S.; OLADIMEJI, M. O., LAJIDE, L.; SINGH, G.; MARIMUTHU, P. ISIDOROV, V. A. *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf volatile oil from South-West, Nigeria. *J Essent Oil Bearing Plants* v. 11, p. 335-341, 2008.
- PAES, M. J.; BRITO, L. G.; MOYA-BORJA, G. E, DAEMON, E. Comportamento reprodutivo e longevidade de casais isolados e agrupados de *Lucilia cuprina*, sob condições controladas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.14, n.1, 21-25, 2005.
- PEREZ, J. M.; GRANADOS, J. E.; RUIZ-MARTINES, I. *Etiologia y biologia* [Miasis]. Ovis. Espanha.v.49, p. 13-31, 1997.
- PLETSCH, M.; SANT'ANA, A. E. G. Secondary compound accumulation in plants – The application of plant biotechnology to plant improvement. *Chemistry of Amazon*, v.5, p.51-64, 1995.
- POHLIT, A. M.; QUINARD, E. L. J.; NUNOMURA, S. M.; TADEI, W. P.; HIDALGO, A. F.; PINTO, A. C. DA S.; SANTOS, E. V. M.; MORAIS, S. K. R.; SARAIVA, R. C. G.; MING, L. C.; ALECRIM, A. M.; FERRAZ, A. B.; PEDROSO, A. C. S.; DINIZ, E. V.; FINNEY, E. K.; GOMES, E. O.; DIAS, H. B.; SOUZA, K. DOS S.; OLIVEIRA, L. C. P.; DON, L. DE C.; QUEIROZ, M. M. A.; HENRIQUE, M. C.; SANTOS, M.; LACERDA JÚNIOR, O. DA S.; PINTO, P. DE S.; SILVA, S. G.; GRAÇA, Y. R. Screening of plants found in the state of Amazonas, Brazil for activity against *Aedes aegypti* larvae. *Acta Amaz.* vol. 34, n. 1, p. 97-105, 2004.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. E.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 5ª ed; p. 403 – 407; 1996.
- REITZ, S. R.; FUNDERBURK, J. E.; WARING, S. M. Differential predation by the generalist predator *Orius insidiosus* on congeneric species of thrips that vary in size and behaviour. *Entomol Exp Appl*, v.119, p. 179–188, 2006.
- RIBEIRO, P. B.; CARVALHO, C. J. B. Pictorial key to Calliphoridae genera (Diptera) in Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* v.7, n.2, p. 137-140, 1998.
- RICHARDSON, J. *Topical use of dimethyl sulfóxide* (DMSO), p.223-225, 1973.

- RIOS, L.; LOPERA, G.; CAICEDO, R.; GRANDA, F.; MONTOYA, A.; RESTREPO, G.; SUÁREZ., R. Extracción y caracterización de aceite de cardomomo (*Elettaria cardamomum*). *Dyna marzo*, v. 74, n. 151, 2007.
- RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C. Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). 1995, 100f. *Tese de Doutorado*, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Sodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 799 – 808, 2000.
- ROGERS, J. A. *Encyclopedia os Chemical Tecnology*. v.16, 3ª Ed., 1981.
- ROJAS, F; ORTIZ, E. Pino caribe (*Pinus caribaea*), espécie de árbol de uso múltiple em América Central. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie, *Informe Técnico*, n. 175, 59 p, 1990.
- RUSSEL, G. B.; PRITAM, S.; FENEMOREC, P. G. Insect-control chemicals from plants III. Toxic lignans from *Libocedrus bidwillii*. *Aust J Biol Sci.* v. 29, p.99–104, 1976.
- RYAN, D.; ROBARDS, K.; LAVEE, S. Evaluación de la calidad del aceite de oliva. *Olivae, Revista do Conselho Oleícola Internacional, Madrid*, n 72, p 23-39, 1998.
- SAJJADI, S. E. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru*, v.14, n.3, p.128-130, 2006.
- SERRA-FREIRE, N. M; MELLO, R. P. *Entomologia e acarologia na medicina veterinária*. Rio de Janeiro, RJ. L. F. Livros. 200p, 2006.
- SHEWEL, G. E. Calliphoridae, p. 1133-1145. In: McALPINE, J. F.; B. V. PETERSON; G. E. SHEWELL; H.J. TESKEY; J.R. VOCKEROTH & D.M. Wood (eds.). *Manual of Nearctic Diptera*. Vol. II. Research Branch, Agriculture Canada, Monograph, v. 28, 657 p, 1987.
- SIDIBE, L.; CHALCAT, J. C.; GARRY, R. P.; LIACOMBE, L.; HARAMA, H. Aromatic Plants of Mali (IV): Chemical composition of essential oils *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., and *C. giganteus* (Hochst) Chiou, *J. Essent. Oil Rev*, 13, p. 110-112, 2001.

SILVA, I. J.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; SILVA, H. H. G.; ELLIAS, C. N.; SILVA, V. V. M.; NERY, A. P.; ROCHA, E. R.; ROCHA, C.; ISAC, E. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *magonia pubescens* sobre *aedes aegypti* em criadouros artificiais. *Rev. Patol. Trop.*, v. 32, p. 73 -86, 2003.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M.; FILHO, A. M. O. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myrozylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. *Quim. Nova*, v. 27, p. 46-49, 2004.

SOUZA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza, UFC/ Lab. *Produtos Naturais*, p. 207-13, 1991.

SOUZA, E. M.; CORDEIRO, J. R.; PEREIRA, M. J. B. Evaluation of insecticide activity of different extracts of *Annona coriacea* seeds over *Dichelops melacanthus*. *Rev. Bras. Agroecol.*, v.2, p. 1107-1110, 2007.

SOULSBY, E. J. L. *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals* (7th edition) 1982. London: Bailliere Tindall, 809 p. 1982.

SPITALER, R.; WINKLER, A.; LINS, I.; YANAR, S.; STUPPNER, H.; ZIDORN, C. Altitudinal variation of phenolic contents in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO: A 3-year comparison. *J. Chem. Ecol.*, v. 34, p. 369-375, 2008.

STAHLMAN, P. W.; CURRIE, R. S.; EL-HAMID, M. A. Nitrogen carrier and surfactant increase foliar herbicide injury in winter wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Technol.*, 11:7-12, 1997.

STEVENS, J.; WALL, R. The evolution of ectoparasitism in the genus *Lucilia* (Diptera: Calliphoridae). *International Journal for Parasitology*, v. 27, p. 51-59, 1997.

STURION, D. J.; PINHEIRO, E. R.; PARDO, E.; TANAKA, N. M. Efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos do dimetil sulfóxido em aplicações tópicas em cães. UNOPAR Cient., *Ciênc. Biol. Saúde, Londrina*, v.1, n.1, p. 41-47, 1999.

SUKONTASON, K. L.; NARONGCHAL, P.; SRIPAKDEE, D.; BOONCHU, N.; CHAIWONG, T.; NGERN-KLUN, R.; PIANGJAI, S.; SUKONTASON, K. First report of human myiasis caused by *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Thailand, and its implication in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology*. v. 42, p. 702-704, 2005.

TRINDADE, R. C. P.; MARQUES, I. M. R.; XAVIER, H. S.; OLIVEIRA, J. V. Neem

seed kernel extract and the tomato leafminer egg and larvae mortality. *Sci. Agric.*, 57:407-413, 2000.

VASCONCELOS, L. P. Investigação de possíveis obstruções sílico-aluminosas em tecidos condutores em *Pinus caribaea* var. *hondurensis* relacionadas à senescência e morte de plantas. 2007, 43 F. Dissertação. Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Agronomia.

VIEGAS JUNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de inseticidas. *Q. Nova*, v. 3, p. 390 – 400, 2003.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C. *Plantas inseticidas*. In: SIMÕES, C. M.; VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: Ed. Da UFSCar, 2001. 176p.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONE, E. *Aleloquímicos, resistência e plantas inseticidas*. In: GUEDES, J. C.; DRESTER DA COSTA, I.; CASTIGLIONE, E. *Bases e Técnicas do Manejo de insetos*. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, 2000. Cap. 8, p. 113-128.

VON ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; REIS, S. F.; GODOY, W. A. C.; VON ZUBEN, F. J. Theoretical approaches to forensic entomology. I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *J Appl Entomol*, v. 120, p. 379-382, 1996.

ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the Old World*. London, Butterworth, 267p., 1965.

WASILEWSKI, J. *Uma nova família de inseticidas químicos representada pelo Confir, agente de controle seletivo de lagartas, uma alternativa “verde” para alguns inseticidas convencionais mais usados*. Doc. N. 12 of Chemistry Department – University of Scranton; 9 p.; 2005.

WELLS, J. D.; GREENBERG, B. Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. *Bulletin of Entomological Research*. v. 82, p. 133-137, 1992.

CAPÍTULO I

AVALIAR A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON CITRATUS* PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA E O MONOTERPENO CITRAL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS DÍPTEROS MUSCOIDES

1. RESUMO

Este trabalho objetivou analisar a composição química e o efeito inseticida do óleo essencial extraído das folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf procedente do Brasil e de Cuba e o seu composto majoritário, o monoterpene Citral, sobre o desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* e *Lucilia cuprina*. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação utilizando aparelhagem do tipo “Clevenger”, e suas composições químicas identificadas após análise por cromatografia em fase gasosa de Alta Resolução (CG/AR) acoplada à espectrometria de massas (EM). As análises químicas dos óleos permitiram a identificação de 13 e 12 constituintes químicos, respectivamente, sendo em ambos os extratos os isômeros Neral (35,21% – Cuba) (36,37% -Brasil) e Geranial (53,2%- Brasil) (51,14% - Cuba) os majoritários; o Mirceno (6,52%) em menor proporção só foi encontrado no óleo de Cuba. Os resultados mostram que não existiram grandes diferenças entre a atividade do óleo cubano e brasileiro. As espécies *L. cuprina*, *M. domestica*, *C. megacephala* tiveram o seu período pós-embrionário aumentado pelos dois óleos (Brasil/Cuba), porém em *C. putoria* ela apresentou um encurtamento no período larval e no período de neolarva a adulto. Todos os grupos tratados apresentaram deformidades. Os resultados do teste com o monoterpene Citral mostraram que *C. megacephala* foi a espécie mais sensível matando 73% no período larval e 77% no período de neolarva a adulto e a menos sensível em *C. putoria* com 40% de mortalidade no período larval e 57% no período de neolarva a adulto. O Citral encurtou o período pós-embrionário das espécies *M. domestica*, *L. cuprina* e *C. megacephala*, porém na espécie *C. putoria* ele atrasou.

2. ABSTRACT

This study aimed to analyze the chemical composition and insecticidal effect of the essential oil extracted from leaves of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf collected in Brazil and Cuba and its major compound, the monoterpene Citral, against the post-embryonic development of muscoid flies *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* e *Lucilia cuprina*. The essential oils were extracted using a Clevenger type equipment, and their chemical composition was analyzed by high-resolution gas chromatography (HRGC) coupled to mass spectrometry (MS). The chemical analysis of the essential oils allowed the identification of 13 and 12 chemical

components, respectively, and in both the major components were the isomers Neral (35.21% – Cuba) (36.37% - Brazil) and Geranial (53.2% - Brazil) (51.14% - Cuba) and, Myrcene (6.52%), in a smaller proportion, was only found in Cuban oil. The results show that there were no differences between the activity of Cuban oil and Brazilian. The post-embryonic period of *L. cuprina*, *M. domestica* and *C. megacephala* elongated with the treatment with both oils, but it shortened the larval and neolarva to adult periods for *C. putoria*. All groups presented morphological alterations.

The results of the test showed that *C. megacephala* was the most sensitive species killing 73% in larval stage and 77% in newly-hatched larvae to adult and less sensitive was *C. putoria* with 40% mortality in the larval stage and 57% in newly-hatched larvae to adult. Citral shortened post-embryonic development period (larval, pupal and newly-hatched larvae to adult) of *M. domestica*, *L. cuprina* and *C. megacephala* but *C. putoria* was delayed.

3. INTRODUÇÃO

Cymbopogon citratus (DC) Stapf pertence à família Poaceae, possuem 600 gêneros e 900 espécies (CLAYTON, 1968), é conhecido popularmente como capim-limão, capim santo, capim cidreira, cidró ou jaçapê. De origem do Sudoeste asiático, amplamente cultivada nos trópicos e subtropicais (GOMES & NEGRELLE, 2003), comumente usada em plantas aromáticas medicinais e estudos etnobotânicos (ALBUQUERQUE & ANDRADE 2002; AMOROZO 2002; MEDEIROS et al., 2004), conhecida internacionalmente como óleo de lemongrass (GUIMARÃES et al., 2008), devido ao seu odor de limão. É uma planta muito utilizada pela população como sedativo, calmante do sistema nervoso, sudorífero, diurético, antibactericida, atividade antimicrobiana (BRAGA, 1960; DÍAZ, JORGE 2001; PEREIRA et al., 2004), além de ser usada como inseticida e inibidora do crescimento de fungos (SARGENTI & LANÇAS, 1997). É extensamente estudada devido a sua grande produção de óleos, sendo usada em perfumaria e cosméticos, possuindo um odor característico de limão (CORRÊA, 1984).

Os óleos essenciais existem em aproximadamente duas mil espécies de plantas distribuídas em 60 famílias, normalmente é produzido nas folhas por células glandulares ou pêlos glandulares (BONNER, 1961), sendo armazenados em espaços extracelulares,

localizando-se entre a cutícula e a parede celular (TAIZ & ZEIGER, 2004). São constituídos de uma forma geral de hidrocarbonetos, álcoois e compostos aromáticos existentes em todas as partes das plantas, sua composição química pode variar de acordo com a localização (MORAIS, 2006), essas plantas produtoras de essências geralmente produzem os mesmos componentes, mas com percentuais diferentes, podendo variar na mesma planta de acordo com os fatores ambientais, como época do ano e hora do dia (FONSECA, 2005), além de apresentarem grande diversidade em termos de estruturas e de propriedades físico-químicas e biológicas (WALL & WANI, 1996). Sua composição química é relatada em diversos trabalhos, sendo o Citral e o Mirceno seus compostos majoritários, o Citral é constituído pela mistura isomérica de geranial ((2E) – 3,7 – dimetilocta – 2,6 dienal, Citral A ou isômero E) e neral ((2Z) – 3,7 – dimetilocta – 2,6 – dienal, Citral B ou isômero Z) (EL FATTAH et al., 1992). Outros aldeídos, como o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído, também podem ser encontrados, além de cetonas e álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol e farnesol (TESKE et al., 1997; LEWINSOHN et al., 1998).

GUIMARÃES et al (2008) verificaram que os compostos majoritários de *C. citratus* coletados em Ijaci/MG- Brasil eram; neral (31,89), geranial (37,42) e Mirceno (23,77%), e que a mesma planta coletada em Havana/Cuba possuía os mesmos compostos, porém percentuais diferentes como: neral (38,2), geranial (49,5), e o Mirceno apresentando um valor menor, 1,7 (PIÑO & ROSADO, 2000).

O Citral, constituinte majoritário do óleo de *C. citratus*, é citado como sendo o responsável pelas atividades atribuídas ao seu óleo essencial, tais como germecidas, repelentes de insetos, efeitos feromônios em insetos (ROBACKER & HENDRY, 1977, KUWAHARA, SUZUKI, MATSUMOTO & WADA, 1983). O Citral tem se mostrado efetivo contra *M. domestica* (Diptera:Muscidae) (RANI & OSMANI (1980), além do *C. citratus* possuir ação larvicida, ovicida e repelente contra dípteros (PUSHPANATHAN et al., 2006). Segundo CARDOSO & SOARES (2010), este monoterpene também mostra uma alta atividade contra cepas de tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 na corrente sanguínea (SANTORO et al; 2007) com uma concentração que induziu 50% de lise celular cerca de 15ng/ mL.

Muitos estudos têm sido feitos com relação à composição química dos óleos essenciais de plantas aromáticas, porém pouco se sabe se há diferença qualitativa e

quantitativa dos compostos químicos dos óleos essenciais das populações de *C. citratus* provenientes do Brasil e de Cuba.

Os dípteros possuem um papel muito importante, suas larvas ajudam na reciclagem de nutrientes fragmentando e modificando bioquimicamente a matéria orgânica em decomposição, abrindo galerias no solo quando se enterram para pupar, com isso fazem com que o solo fique mais aerado. Outro fator importante é que ajudam na polinização, principalmente em regiões muito áridas, além de carregarem microorganismos (saprófitas) que são importantes aos ciclos biogeoquímicos, além de fazerem parte de uma cadeia alimentar, mantendo diversos animais insetívoros (ODUM, 1983). Essas moscas muitas vezes se tornam um problema econômico e de Saúde Pública, pois o aumento da sua população principalmente em regiões mais quentes facilita a dispersão e a invasão de domicílios e propriedades (PRADO, 2003).

A Infraordem Muscomorpha possui moscas saprófagas, necrófagas, predadoras ou hematófagas, muita das quais possuindo grande importância biológica e/ou médico-veterinária para os seres humanos (NEVES, 2000).

Os dípteros muscoides *Chrysomya megacephala*, *C. putoria*, *Lucilia cuprina* e *Musca domestica* apresentam amplo aspecto alimentar são causadores de miíase e carreadores de microrganismos, patógenos e causam enorme prejuízo ao homem e a agropecuária (QUEIROZ, 1996), apresentando assim grande importância sanitária (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES et al., 1979). Os praguicidas sintéticos fazem com que os dípteros desenvolvam resistência aos inseticidas, além de causar impacto ao ambiente por contaminar água, solo e ser tóxico a vertebrados, tornando-se viável o manejo integrado através da seleção e introdução de métodos de controle (PRADO, 2003). Devido aos produtos naturais se encontrarem abundante na natureza e de fácil acesso, pode servir de matéria prima para o desenvolvimento de produtos com potenciais na área de fármacos ou ainda inseticidas (FERREIRA et al., 2001; NEWMANN et al., 2003). Várias dessas substâncias vegetais têm sido aplicadas de forma tópica sobre insetos (RAGURAMAN & SINGH, 1998) e alimentos (VALLADARES et al., 1997), misturados nas dietas (RAGURAMAN & SINGH, 1999; HERNÁNDEZ & VENDRAMIM, 1996) e também sobre posturas (BOFF & ALMEIDA, 1996). Em alguns casos os alimentos são submergidos nessas substâncias (ROEL et al., 2000).

Na busca de um controle alternativo os óleos essenciais com a sua eficácia, tanto como repelente como inseticida contra diversas pragas, como alvo especificidade e segurança para os seres humanos podem ser uma boa opção.

Trabalhos recentes têm demonstrado a eficácia dos óleos essenciais como inseticida contra pragas de agricultura e sem ser de pragas (REITZ et al., 2006; ISHII et al., 2010). Entre os vetores, a sua atividade tem sido registrada contra adultos e larvas de vários insetos (OSMANI & SIGHAMONY, 1980; SUKUMAR et al., 1991; OLIVEIRA et. al., 2013; SANTIN et. al., 2011).

Os óleos essenciais da folha de *Pimenta racemosa* var. *grisea* usada no Caribe para tratar dores e inflamações, apresentaram efeitos contra bactérias Gram positivas (*Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*) e algumas Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Salmonella thyphimurium* e *Escherichia coli*), esses resultados se devem a presença dos compostos 4-metoxi-isoeugenol e 4- metoxieugenol (SAENZ et al., 2004). Esses são produtos voláteis de origem vegetal, obtidos de várias partes vegetais, principalmente por processo físico, destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida, extração com solventes voláteis e CO₂ supercrítico (SEMEN; HIZIROGLU, 2005). Segundo BRASIL (1999) os compostos complexos são divididos em dois grupos principais: derivados de terpenoides e/ou derivados fenilpropanoides, estando principalmente representados nas famílias Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae e Apiaceae, Poaceae e Pinaceae (FLORÃO, 2006, CASTRO et al., 2010; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, et al., 2013). São ainda lipossolúveis, sendo altamente solúveis em solventes orgânicos e pouco solúveis em água (SIMÕES & SPITZER, 2004). De acordo com BURT (2004), os diferentes métodos de extração originam extratos com propriedades organolépticas distintas. Observando assim que quando existe diferença no perfil organoléptico, existe diferença na composição química, o que também pode influenciar na atividade biológica dos óleos essenciais como foi observado com o óleo essencial de *Pogostemon cablin* (patchouli) (Lamiaceae) que foram encontrados sesquiterpenos, que quando aplicado topicamente, levava a uma alta mortalidade, porém quando foi fumigado apresentou baixa mortalidade, isso se deu devido pouca atividade de fumigação ou pela pouca entrada de sesquiterpenos através do trato respiratório das moscas (PAVELA, 2008). Outro fator importante é a composição química dos óleos essenciais que de alguma maneira

contribui para a determinação do potencial farmacológico dos vegetais, que pode variar devido a fatores extrínsecos à biologia vegetal (ambientais ou edáficos) e ou intrínsecos à biologia vegetal (fisiológicos e genéticos) (CUNHA et al., 2005; SIMÕES & SPITZER, 2004). O que foi observado por MINOTT & BROWN (2007), que verificaram a diferença na quantidade dos componentes do óleo essencial nas folhas de *Pinus dioica* (macho) e *Pinus dioica* Vell. (Pinaceae) fêmea. O que foi comprovado por LIMA et al. (2006), quando analisaram o óleo essencial das folhas de dois espécimes de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae) coletados em duas localidades diferentes no Brasil, demonstrando também diferentes atividades antimicrobianas frente a *Candida albicans* (ATCC 10231), *E. coli* (ATCC8739) e *P. aeruginosa* (ATCC 9027) e *S. aureus* (ATCC 6538), isso se deve a composição química dos óleos que apresentavam em um deles o eugenol e o outro 4-metileugenol.

Cymbopogon citratus é conhecido internacionalmente como “Lemon Grass” e é usado na medicina popular tanto para os malefícios do homem quanto para os animais (LUCENA et al., 2013). É uma planta que resiste as variações do solo e clima (SANTOS et al., 2009), ORTIZ et al. (2002) consideram que o clima ideal para o seu desenvolvimento são o calor e clima úmido com chuvas distribuídas uniformemente. Na Índia essa planta mostrou possuir uma grande variação no conteúdo do óleo essencial entre todos os meses durante o ano todo (HANDIQUE et al., 1984), demonstrando que um dos fatores mais importantes que influencia o conteúdo do óleo essencial é a humidade do solo (ORTIZ et al., 2002).

Vários trabalhos usando metodologias diferentes têm sido feitos no Brasil com os princípios ativos dos óleos de *Cymbopogon citratus* capim limão, *Cymbopogon winterianus* e a citronela-do-ceilão, *Cymbopogon nardus* (Poaceae). Essas substâncias têm sido comercializadas como repelentes de insetos como: culicídeos (mosquitos e pernilongos) e simúlídeos (borrachudo), sendo comprovada a ação de *C. winterianus* contra *Aedes aegypti*, *Anopheles dirus* (Payton and Harrison) e *Culex quinquefasciatus* (Say) (Culicidae) (TAWATSIN et al., 2001). Citronelol e citronelal substâncias químicas presentes nas espécies de plantas *Cymbopogon* spp inibiu a oviposição em *Delia antiqua* Meigen (Diptera: Anthomyiidae) (LABINAS & CROCOMO, 2002). *Cymbopogon winterianus* foi capaz de matar as larvas de *A. aegypti*, porém o óleo de *Vanillosmopsis arborea* (candeeiro), e de alecrim pimenta, *Lippia sidoides* Chamisso não obtiveram o mesmo resultado (FURTADO et al., 2005).

Este estudo teve como objetivo analisar a composição química e o efeito inseticida do óleo essencial das folhas *C. citratus* procedentes do Brasil e de Cuba e do monoterpene Citral sob o desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* e *Lucilia cuprina*.

4. MATERIAL E MÉTODOS/ (Referentes ao Capítulo I e II)

4.1. Obtenção e Preparação dos Óleos Essenciais

Para a extração dos óleos essenciais foram utilizados 3kg de folhas frescas de *C. citratus* (D.C) Stapf (Figura. 9) e *P. caribaea* Morelet (Figura 10) coletados no distrito de Miraflores no Município de Moa, Província de Holguín – Cuba (latitude: - 20° 38' 21", longitude: -75° 01' 44") (Figura 11). A Identificação da espécie e os parâmetros de qualidade da droga vegetal foram garantidos pela Empresa Agropecuária do próprio município de Moa, provedor exclusivo de fitofármacos nesta região de Cuba. A classificação taxonômica foi realizada pelo Herbario del Oriental de Ecosistemas y Biodiversidade (BSC) e suas excicatas depositadas sob o número 16443 e 9014, respectivamente.

No Brasil as folhas de *C. citratus* foram coletadas no Laboratório de Cultivo e Produção de Biomassa de Farmanguinhos, Fiocruz, (latitude: 22°87'49", 43°24'53" longitude), localizada no bairro de Jacarepaguá, município do Rio de Janeiro (RJ), Brasil. A classificação taxonômica foi realizada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e suas excicatas depositadas no Herbário da mesma Instituição, sob o número RB3273021 e o exemplar nacional da espécie *P. caribaea* (inflorescência) foi coletado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (Figura 12A, B), e (C) Localização das árvores de *Pinus caribaea*, no município de Seropédica Km 7 da BR – 465, Rio de Janeiro (latitude: -22.455812, longitude: - 43411239). A Identificação da espécie e os parâmetros de qualidade da droga vegetal foram garantidos pela Empresa Agropecuária do próprio município de Moa, provedor exclusivo de fitofármacos nesta região de Cuba. A classificação taxonômica foi realizada pelo Herbario del Oriental de Ecosistemas y Biodiversidade (BSC) e suas excicatas depositadas sob o número 9025.

As folhas frescas da espécie vegetal *C. citratus* e *P. caribae* foram submetidas à hidrodestilação utilizando aparelhagem do tipo “Clevenger” (Figura 13) com algumas modificações, conforme preconiza a FARMACOPÉIA BRASILEIRA (2010).

4.2. Obtenção do Monoterpeno Citral

O composto sintético Citral foi comprado na Tedia®, Brasil.



Figura 9. Plantação de *Cymbopogon citratus* (DC) Staph (Poaceae)
(http://www.dr.hauschka.com/en_DE/knowledge-base/medicinal-plant-facts/lemon-grass/).



Figura 10. *Pinus caribaea* Morelet coletados (Pinaceae) (<http://elprofedebiolo.blogspot.com.br/2013/05/familia-pinaceae-en-costa-rica.html>).



Figura 11. Local de coleta das folhas de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Pinus caribaea* Morelet – distrito de Miraflores do Município de Moa, Província de Holguín-Cuba (latitude: $-20^{\circ}38'21''$, longitude: $-75^{\circ}01'44''$), foto de satélite ([http://es.wikipedia.org/wiki/Moa_\(Cuba\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Moa_(Cuba))).

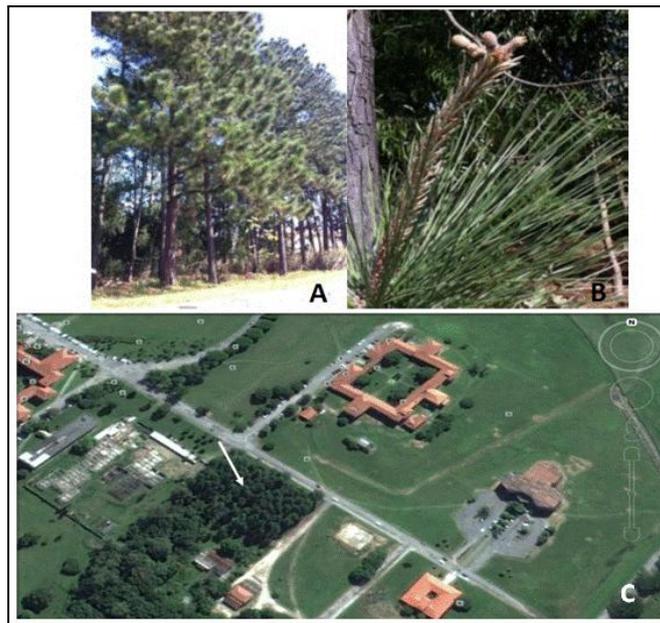


Figura 12. Árvores de *Pinus caribaea* Molrelet (A) e inflorescências (B). (C) Localização das árvores de *Pinus caribaea* na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), no município de Seropédica no Km 7 da BR – 465- Rio de Janeiro-Brasil(latitude:-22.455812,longitude:43411239)(Fotos A e B acervo pessoal e mapa da rural - foFotohttps://www.google.com/maps/d/viewer?oe=UTF8&ie=UTF8&msa=0&mid=zMJPT3gLdXu0.kDAbdFK8B2c0)

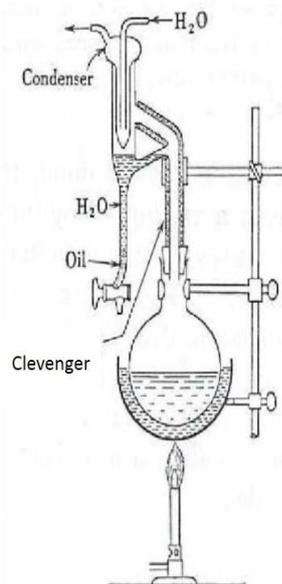


Figura 13. Equipamento do tipo “Clevenger” (FERNÁNDEZ SÁNCHEZ, 2013).

4.3. Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR) Acoplada à Espectrometria de Massas (EM)

As análises qualitativas dos componentes voláteis foram realizadas por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR) acoplada a espectrometro de massas (EM). Para isso, foi utilizado o cromatógrafo gasoso modelo HP7590 A (Agilent Technologies, USA) equipado com coluna capilar DB-5MS, de dimensões 30 m x 0,32 µm e 0,25 µm de espessura de filme. As condições de análise da Cromatografia Gasosa consistiram em uma temperatura inicial de 40 °C e final de 290 °C, a 4 °C por minuto com isotrema de 5 minutos. O volume de injeção da amostra foi de 1 µL utilizando-se Hélio como gás de arraste, com fluxo de 0,5 mL por minuto.

As análises por espectrometria de massas foram realizadas utilizando espectrômetro de massas modelo HP5972 A, com analisador de íons quádruplo e ionização por impacto de elétrons a 70 eV. As estruturas foram identificadas por comparação de espectros presentes na espectroteca (base de dados) NIST107 e por determinação dos índices de retenção de Kovacts. Alguns espectros foram comparados com a bibliografia especializada no assunto (ADAMS, 2001).

4.4. Estabelecimento e Manutenção da Colônia de Dípteros

As colônias das espécies *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* e *Lucilia cuprina* foram estabelecidas a partir de adultos coletados, em uma caçamba de lixo localizada na comunidade do Amorim (Figura 14A), próximo a uma das entradas da FIOCRUZ (latitude: 22.875607, longitude: - 43.250606) (Figura 14B). Os adultos foram capturados com o auxílio de uma rede entomológica (puçá), acondicionados em tubos Falcon para o transporte até o laboratório.



Figura 14. Local da captura dos adultos de dípteros Muscoide para formação de colônia em laboratório. (A) caçamba utilizada para deposição de lixo. (B) localização da caçamba na comunidade do Amorim – RJ (Acervo pessoal).

Os Adultos coletados foram levados para o laboratório, triados e transferidos para gaiolas de madeiras (30 X 30 X 30cm), revestidas nas laterais com tela de náilon de cor branca e com uma abertura frontal revestida com tecido de algodão de cor preta para permitir o manuseio dos espécimes (Figura 15). As gaiolas foram acondicionadas em estante ventilada com temperatura regulada em 27 °C, umidade controlada em $60 \pm 10\%$ e 12 de fofotase (Figura16). No interior da gaiola foram colocados açúcar refinado e água para manutenção dos adultos. Como substrato para oviposição foi utilizada carne bovina putrefata.

As massas de ovos obtidas foram transferidas também para uma dieta à base de carne bovina putrefata. Logo após a emergência, os adultos foram sexados e transferidos para as gaiolas semelhantes às da colônia estoque. A dieta à base de carne bovina em início de putrefação foi oferecida até o 4º dia pós-emergência para estimular a oogênese, quando então foi suspensa, até ser reintroduzida no 11º dia pós-emergência com o objetivo de padronizar o início da fase de oviposição. A dieta alimentar dos adultos consistiu de açúcar, carne bovina putrefata e água *ad libitum*. Esta é oferecida em recipiente de vidro contendo um pavio feito de gaze embebido nesta água. As posturas para a realização da fase experimental foram obtidas segundo esta mesma metodologia. Foram usadas no experimento F3 das espécies.



Figura 15. Gaiola para criação de adultos de dípteros em laboratório (Acervo pessoal).



Figura 16. Estante ventilada com temperatura regulada em $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ URA e 12 de fototase (Acervo do pessoal).

4.2- Obtenção da Neolarva (larva recém eclodida)

No dia anterior ao experimento foi colocada dentro da gaiola de criação da colônia de dípteros uma placa de Petri contendo carne bovina moída putrefata, com o objetivo de estimular a ovipostura. Na manhã seguinte, as larvas recém-eclodidas (L1),

foram separadas em grupos (N=50), para posterior aplicação dos bioensaios com óleos essenciais de *C. citratus* e *P. caribaea* (Brasil/Cuba) (4 repetições). Para o bioensaio com o monoterpene Citral e o terpeno Cariofileno foram usados N=30, de neolarvas (3 repetições).

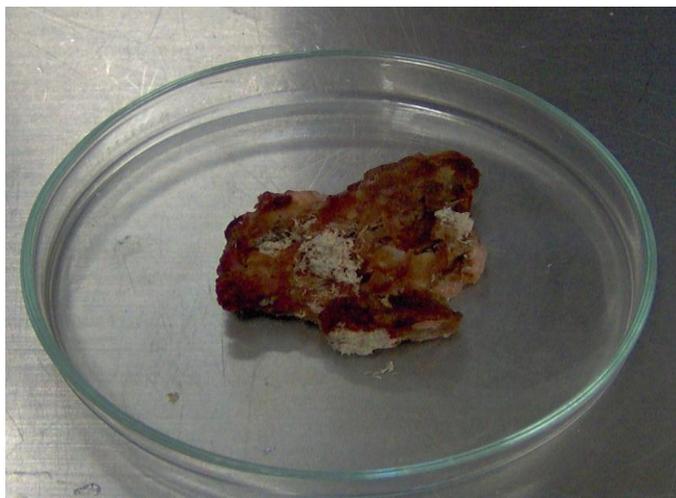


Figura 17. Postura de díptero Muscoide em carne bovina putrefata (Acervo pessoal).

4.3. Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus* e *Pinus caribaea* procedentes de Cuba e do Brasil e do Monoterpeno Citral e o terpeno Cariofileno.

O óleo essencial de *C. citratus* e de *P. caribaea* (Brasil/Cuba) foi dissolvido em DMSO (SIGMA – EUA) da seguinte maneira (5% = 25 μL /óleo + 475 μL /DMSO; 10% = 50 μL / óleo + 450 μL /DMSO); 25% = 125 μL / óleo + 375 μL /DMSO; 50% = 250 μL / óleo + 250 μL /DMSO; 75% = 375 μL / óleo + 125 μL /DMSO and 100% óleo puro), onde foram preparadas diferentes diluições, a partir da solução absoluta (100%), a fim de testar seis diferentes concentrações (5, 10, 25, 50, 75 e 100%) para cada óleo (Cuba e Brasil) e dois grupos controle (com DMSO e sem DMSO), sendo todas estas mantidas sobre refrigeração até o momento da aplicação. Para o Citral e o terpeno Cariofileno foram utilizados 10 μL em 10 larvas na concentração de 17,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ e 0,83 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, respectivamente. Calculadas a partir das médias dos constituintes encontrados nos dois óleos Brasil e Cuba.

Para aplicação dos óleos essenciais de *C. citratus* e de *P. caribaea* (Cuba e Brasil), foram usadas 50 neolarvas de *M. domestica*, *C. megacephala*, *C. putoria* e

L. cuprina que foram transferidas com auxílio de pincel de pêlo nº zero para placas de Petri forradas com papel de filtro umedecidas com o caldo da carne para evitar a dispersão das mesmas. Sobre estas neolarvas foi aplicado 50 µL da substância com o auxílio de pipetas automáticas, mantendo-se a concentração de 1 µL / neolarva, utilizando-se diferentes ponteiros para diferentes soluções. Após o tratamento com a solução, as larvas eram colocadas sobre a dieta à base de carne bovina putrefata (50g), foram feitas 4 réplicas por solução. Para aplicação tópica do Citral e do Cariofileno foram usadas 10 neolarvas - n=10 (3x) de cada espécie a seguir: *M. domestica*, *C. megacephala*, *C. putoria*, *L. cuprina* que foram transferidas com auxílio de pincel de pêlo nº zero para placas de Petri forradas com papel de filtro, umedecidos com o caldo da carne para evitar a dispersão das mesmas. Sobre estas neolarvas foi aplicado topicamente 10 µL da substância com o auxílio de pipetas, mantendo-se a proporção 1:1 de neolarva, utilizando-se diferentes ponteiros. Após o tratamento com a solução, as larvas eram colocadas sobre a dieta à base de carne bovina putrefata (10 g), foram feitas 3 réplicas por solução e dois grupos controle (com/sem DMSO). Os recipientes contendo a dieta com as larvas eram introduzidos em potes plásticos maiores contendo vermiculita e tampados com tecido escaline preso com elástico. Uma vez abandonada a dieta, as larvas foram pesadas individualmente em balança analítica, transferidas para tubos de ensaios contendo vermiculita, identificados e tampados com algodão hidrófobo. Após a emergência foi realizada a sexagem dos adultos.

Todos os tratamentos foram realizados em condições laboratoriais, com a utilização de uma câmara climatizada do tipo B.O.D. regulada a uma temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ com Umidade Relativa do Ar (URA) de $60\pm 10\%$ e com fotoperíodo de 12 horas.

Para os resultados obtidos dos testes dos óleos de *C. citratus* e *P. caribaea* coletados em Cuba e no Brasil e o monoterpeno Citral e o Cariofileno sobre *M. domestica*, *C. megacephala*, *C. putoria* e *L. cuprina* foram observados os seguintes parâmetros: o peso das larvas maduras, a duração do período larval, pupal e da fase de neolarva a adulto, assim como a viabilidade dos estágios de desenvolvimento e a razão sexual ($nF/nF+nM$, onde nF representa o número de fêmeas e nM o número de machos (RODRIGUES, 2004)).

Os resultados foram analisados através da análise de variância (ANOVA 1; $P \leq 0,05$) (SOKAL, ROHLF, 1979). O teste de Tukey foi utilizado para a análise do desenvolvimento pós-embrionário. Os testes estatísticos foram realizados com o programa de computador InStat (versão 3.05, 2000).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises químicas dos óleos essenciais de *C. citratus* cultivadas no Brasil e em Cuba permitiram a identificação de 13 e 12 constituintes químicos, respectivamente, sendo em ambos os extratos os constituintes majoritários os isômeros geranial (E-Citral) (53,2%- Brasil) e (51,14%- Cuba) e o neral (Z- Citral) (36,37%- Brasil) e (35,21% Cuba); o Mirceno só foi encontrado no óleo de Cuba (6,52%) (Tabelas 1). O *C. citratus* brasileiro apresentou na sua composição Canfeno, 6-Metil-5-hepten – 2-ona, Limoneno, Linalol, n-Decanal, Z- Citral (Geranial), 2 – Undecanona, Acetato de geranila, (E) – Cariofileno, γ - Cadineno e Óxido de Cariofileno e o Cubano demonstrou a presença de 6-Metil – 5- 2-ona, Mirceno, Linalol, Citronelol, Z- Citral (Neral), Geraniol, E – Citral (Geranial), 2-Undecanona, Acetato de geranila, 2-tridecanone, γ - Cadinene, Caryophyllene Oxide. Os resultados mostraram diferenças qualitativa e quantitativa nos óleos, porém na concentração total dos compostos os valores foram muito próximos. A julgar pela classificação do óleo essencial do capim limão, ambos os óleos (Brasil e Cuba) se classificam como do tipo “East Indian” por apresentarem menor concentração de Mirceno (0 a 12%), e o Citral pode atingir 86% do extrato (SOUZA et al. 1991).

A maioria das análises da espécie de *C. citratus* nos diferentes habitats pelo mundo identifica o Citral como o maior constituinte volátil presente (MIRANDA, 2012). O Citral, principal componente do óleo de capim-santo, é uma mistura dos isômeros aldeídos α - Citral ou geranial e β - Citral (trans Citral) ou neral (cis Citral), sendo separáveis por cromatografia gasosa líquida (LEAL, 1998; NEGRELLE & GOMES, 2007). Sendo citado como o responsável pelas atividades atribuídas ao seu óleo essencial, tais como germicidas, repelentes de insetos, aplicações na indústria farmacêutica, entre outras (MIRANDA, 2012). EKUDAYO (1985).

Em estudos com o *C. citratus* coletados na Etiópia, também foi encontrado o geranial como componente majoritário do seu óleo. PIÑO & ROSADO (2000), ao estudarem exemplares coletados na parte ocidental de Cuba, na cidade de Havana, verificaram que as amostras dos óleos essenciais de *C. citratus* apresentavam alto teor de neral (38,2%) e geranial (49,5%) e baixo teor de Mirceno (1,7%). Os exemplares desse estudo foram coletados na parte oriental de Cuba, na cidade de Santiago de Cuba, e apresentava resultado similar com relação ao teor de neral (35,21%) e geranial (51,14%) e o Mirceno com um valor de 6,52%.

O óleo essencial extraído do *C. citratus* coletado no Brasil apresentou o isômero neral a 36% e o geranial com 53,2%, porém não apresentou o Mirceno (Tabela 1). FURLAN (2010) estudando óleos essenciais de capim limão de duas regiões diferentes de São Paulo observou que eles apresentavam composição química diferente, a composição do óleo cultivado em Pindamonhangaba –SP apresentava uma alta concentração de Citral (96,0%), enquanto que a outra população que foi coletada em Ibiúna-SP apresentava o Citral e um alto valor de um composto monoterpeneo, o geraniol.

Plantas de diferentes regiões do país diferem quanto à porcentagem de Citral e Mirceno, os principais constituintes do óleo. Conforme resultados de pesquisas, o óleo da variedade cultivada em São Paulo mostrou conter 47% de Citral e 38% de Mirceno como constituintes principais. Os exemplares de Fortaleza apresentaram alto teor de Citral (77%) e baixo teor de Mirceno (16%), sendo esta composição compatível com a do óleo do tipo West Indian (SOUZA, 1991 apud NASCIMENTO, 2003). As variações na sua composição também podem estar ligadas à influência do meio ambiente em que as plantas são cultivadas

Corroborando o nosso estudo, CIMANGA et al. (2002) e COSTA et al. (2005) também observaram a presença do Citral como o constituinte majoritário do *C. citratus*. COSTA et al. (2013) identificaram nove componentes através de CG-MS, sendo os valores para neral (37,78%) e para o geranial (49,98%), o que foi observado por FRANZ; KNAAK & FIUZA (2011), que observaram valores similares do geranial (47,56%) e neral (31,5%). Outros aldeídos, como o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído, também podem ser encontrados, além de cetonas e álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol e farnesol (TESKE et al., 1997; PEREIRA, 2006). KUMAR et al. (2013), ao analisarem por GC- MS o óleo “lemongrass” (*C. citratus*),

reportaram como compostos majoritários o Citral (47%; α -Citral 17,9 %; β - Citral 29,0%), 1,8 – Cineole (7,5%) e Cariofileno (6,4%). A composição do Citral pode variar entre 60 e 100% (KASALI et al., 2001; PARANGAMA et al., 2003; CAVALCANTI et al., 2004). Ao compararmos com os nossos resultados obtidos verificamos que houve variação na composição química e na quantidade dos constituintes. Essas variações segundo KUMAR et al. (2011a), se devem ao genótipo da planta ou a fatores externos, como geografia, condições agronômicas e ecológicas (OLIVEIRA et al., 2005). Levando em consideração também a variabilidade genética, que influencia diretamente a qualidade dos óleos voláteis e é expressa através dos chamados quimiotipos (TAVARES et al., 2005). PIÑO & ROSADO (2000) verificaram que o óleo essencial de *C. citratus* coletado em Alquizar, um distrito de Havana – Cuba, possui os mesmos componentes químicos majoritários neral (38,2%) e geranial (49,5%), e com valores próximos ao obtido em nossos experimentos para os óleos do Brasil e de Cuba (distrito de Miraflores-Cuba) (Tabela 1). Porém, possui maior quantidade de compostos químicos (26) quando comparado com o do nosso experimento (12) que também foi coletado em Cuba, só que em outro distrito chamado Miraflores.

Vários trabalhos relatam que além do Citral, o Mirceno também faz parte dos compostos majoritários desse óleo (GUIMARÃES et al., 2008), em nosso estudo o Mirceno só foi encontrado no óleo essencial de *C. citratus* coletado em Cuba. Este composto pode ser encontrado não só no capim-limão como em outras plantas, ele é um monoterpene acíclico, de nome sistemático 7 – metil- 3- metileno – 1,6- octadieno, além de possuir várias atividades biológicas comprovadas, capazes de interferir na biotransformação de drogas, como ciclofosfamidas, barbituratos, bromobenzeno quando presentes no organismo de mamíferos. Apesar de o óleo cubano apresentar o composto Mirceno, não se observou o que foi relatado por TAIZ & ZEIGER (1991), que o limoneno e o Mirceno são tóxicos para os mais variados tipos de insetos.

Tabela 1. Composição química (%) do óleo essencial da espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf coletado no Brasil e em Cuba

Compostos	Abundância relativa (%)		Índice de Retenção Kovat's	ID
	Brasil	Cuba		
	Canfeno	0,29	-	953
6-metil-5-hepten-2-ona	0,19	0,23	936	MS, RI
Mirceno	-	6,52	988	MS, RI
Limoneno	0,99	-	1030	MS, RI
Linalol	0,42	0,69	1079	MS, RI
Citronelol	-	0,16	1132	MS, RI
n – Decanal	0,19	-	1214	MS, RI
Z – Citral (Neral)	36,37	35,21	1231	MS, RI
Geraniol	2,66	2,23	1247	MS, RI
E-Citral (Geranial)	53,2	51,14	1258	MS, RI
2 – Undecanona	0,22	0,35	1287	MS, RI
Acetato de geranila	1,5	0,20	1359	MS, RI
(E)- Cariofileno	1,03	-	1414	MS,RI
2- Tridecanone	-	0,10	1486	MS, RI
γ – Cadineno	0,27	0,27	1513	MS, RI
Óxido de cariofileno	0,59	0,59	1583	MS, RI
Total identificado	97,92	97,69		

ID = Método de Identificação; MS= comparação do espectro de massa com as das bibliotecas de massa do computador, e ADAMS (2007); IR = comparação do cálculo do Índice de Retenção com os reportados na literatura.

Comparando os valores e os constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas da espécie *C. citratus* coletados no Brasil e em Cuba, observou-se que houve diferença nos constituintes químicos; o óleo brasileiro apresentou maior quantidade de constituintes químicos. Com relação aos constituintes que se apresentavam nos dois óleos houve pouca variação em suas abundâncias relativas. Os constituintes majoritários apresentavam valores similares.

Quando comparados os dados do experimento com os da literatura observou-se que existem similaridades e variações com resultados deste trabalho. Essas diferenças nos valores podem ser atribuídas a fatores genéticos, local de coleta, idade da planta, condições climáticas, diferenças de tipos de solo, entre outros. Entretanto, é muito difícil saber o que ocorre com o metabolismo vegetal no meio ambiente, visto que as interações que ocorrem entre as plantas e o ambiente não podem ser controladas. Sabe-se que quando se coleta uma planta, a sua composição do óleo já é alterada, pois as diversas técnicas de extração dos metabólitos originam artefatos. Essas alterações nos óleos essenciais podem vir a desencadear uma atividade biológica como é relatado por BARNOLA et al. (1997).

Bioensaio

Larvas de *M. domestica* tratadas com óleo essencial da espécie *Cymbopogon citratus* coletadas no Brasil e em Cuba apresentaram diferença significativa ($P < 0,0001$) quando comparadas com os grupos controles (com/sem DMSO) (Tabela 2). O período larval teve o seu tempo prolongado nas concentrações do Brasil (5% = $7,17 \pm 0,37$, 10% = $7,20 \pm 0,40$, 25% = $7,18 \pm 0,39$ e 100% = $12,15 \pm 0,36$ dias), não apresentando muita diferença nos resultados obtidos com o óleo de Cuba (5% = $7,14 \pm 0,35$; 10% = $7,15 \pm 0,36$; 25% = $7,17 \pm 0,38$ e 100% = $12,18 \pm 0,39$ dias), quando comparados com os grupos controle com DMSO ($5,31 \pm 0,58$ dias) e sem DMSO ($6,68 \pm 0,47$ dias) (Tabela 2). No presente estudo a prolongação do período larval com testes de plantas foi similar ao reportado na espécie estudada por nós. ELKATAN et al (2011) observaram um significativo prolongamento no período larval de *M. domestica* quando tratadas com CL₂₅ de *C. macrocarpa* (Cupressaceae), com CL₂₅, CL₅₀ e CL₇₅ de *L. camara* L. (Verbenaceae), *Perlagonium zonale* L. L'Her (Geraniaceae) e *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) e na CL₅₀ de *C. macrocarpa*, quando comparadas com o grupo controle. Isso também foi observado por GAD ALLAH (1991), usando

Melia azedaracha L. (meliaceae) e *Venca rosea* L. (Apocynaceae), ANDE (2001), usando *Peganum harmala* L. (Nitrariaceae), *Acalypha indica* L. (Euphorbiaceae) e *Calotropis procera* (Ait.) Ait. F. (Asclepiadaceae) e *Atriplex inflata* L. (Chenopodiaceae). Também foi encontrado um encurtamento nas concentrações de 50 e 75% no período larval de *M. domestica* testada com o óleo essencial da espécie *C. citratus* coletados no Brasil (50% = 5,18±0,39 e 75% = 5,20±0,40 dias) e em Cuba (50% = 5,19±0,39 e 75% = 5,23±0,42 dias), não havendo diferença entre elas. O que foi observado por ELKATAN et al (2011), ao tratar *M. domestica* com CL₅₀ de *A. nilotica* L. (Fabaceae) e SHAALAN et al. (2005) verificaram que larvas de *A. aegypti* tratadas com *Callitris glaucophylla* Thompson and Johnson, 1986 (Cupressaceae) empuparam rapidamente quando houve um aumento da toxicidade. A razão dessas variações no período larval dos insetos tratados com o óleo essencial ainda não é clara, embora alguns autores sugeriram que algumas substâncias extraídas de plantas são capazes de afetar o sistema endócrino do inseto, agindo diretamente no desenvolvimento ou na produção hormonal (CABRAL et al., 1999), essa interferência foi verificada por MIYAZAWA et al. (1994) ao usarem a neolignana chamada licarina A na mosca da fruta *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae), estes observaram uma interferência direta no seu período de desenvolvimento. A atividade inseticida do óleo de *C. citratus* é atribuída ao monoterpene Citral seu maior componente, ele tem sido usado como agente fumigante contra *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) (YANG et al., 2005), porém o neral e o geranial demonstraram possuir atividades supressoras de apetite contra três espécies de mosquitos *C. pipiens pallens*, *C. pipiens quinquefasciatus* e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) (LEAL & UCHIDA, 1998). As características estruturais dos terpenoides podem influenciar nas suas propriedades inseticidas (PAVELA, 2008), e dependendo do grau de saturação e do tipo funcional do grupo podem influenciar na penetração da cutícula do inseto, ajudando na sua degradação (RICE & COATS, 1994). Embora o mecanismo de ação dos óleos essenciais e dos seus constituintes seja desconhecido, o aparecimento de sinais tóxicos é rápido (KNAAK & FIUZA (2010).

ENAN (2001) observou que baratas (*Periplaneta americana* L.) (Insecta: Blattodea: Blattidae) tratadas com óleos essenciais apresentavam hiperatividade, seguida por hiperextensão das pernas e do abdômem. A espécie *C. citratus* tem

mostrado possuir atividade inseticida contra várias espécies de mosquitos (CAVALCANTI et al., 2004; PUSHPANATHAN et al., 2006).

Apesar do método utilizado e a espécie de díptero serem diferentes CAVALCANTI et al. (2004) obtiveram para larvas de *A. aegypti* uma CL₅₀ de 69ppm ou µg/cm³, enquanto para larvas de *C. quinquefasciatus* a CL₅₀ foi de 144 – 185 µg/cm³

O período pupal de *M. domestica* tratada com os óleos essenciais de *C. citratus* do Brasil e de Cuba apresentou uma duração maior em todas as concentrações, diferindo significativamente dos grupos controle (com DMSO = 5,31 ± 0,58 e sem DMSO = 5,23 ± 0,42dias), não havendo diferença significativa entre os óleos. Além disso, apresentou uma alta mortalidade, acima de 20% nas concentrações 5, 10 e 75% (21, 23 e 22%), respectivamente no óleo essencial de *C. citratus* coletado em Cuba (Tabela 3). O que foi observado por KUMAR et al. (2013) ao estudarem este mesmo óleo e a mesma espécie de mosca (*M. domestica*), registraram uma alta atividade larvicida e pupicida CL₅₀ de 0,41µL/cm² e uma inibição de 77,3%, respectivamente.

Com relação ao período de neolarva a adulto todas as concentrações dos óleos essenciais do Brasil e de Cuba apresentaram uma duração maior do período com diferença significativa ($P < 0,0001$) quando comparadas com os grupos controle (com DMSO= 10,63 ± 1,16 e sem DMSO = 11,91 ± 0,29dias).

Tabela 2. Duração dos estágios pós-embrionário de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	X ± DP [#]		X ± DP [#]		X ± DP [#]		X ± DP [#]		X ± DP [#]		X ± DP [#]	
Brasil	IV (Dias)	Cuba	IV (Dias)	Brasil	IV (Dias)	Cuba	VI (Dias)	Brasil	IV (Dias)	Cuba	IV (Dias)	
Controle	6,68 ± 0,47a	6,0 – 7,0	6,68 ± 0,47a	6,0 – 7,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	11,91 ± 0,29a	11,0 – 12,0	11,91 ± 0,29a	11,0 – 12,0
DMSO	5,31 ± 0,58b	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58b	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58a	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58a	4,0 – 7,0	10,63 ± 1,16b	8,0 – 14,0	10,63 ± 1,16b	8,0 – 14,0
5%	7,17 ± 0,37c	7,0 – 8,0	7,14 ± 0,35c	7,0 – 8,0	7,14 ± 0,34b	7,0 – 8,0	7,12 ± 0,32b	7,0 – 8,0	14,51 ± 0,50c	14,0 – 15,0	14,42 ± 0,49c	14,0 – 15,0
10%	7,20 ± 0,40c	7,0 – 8,0	7,15 ± 0,36c	7,0 – 8,0	7,11 ± 0,31b	7,0 – 8,0	7,10 ± 0,30b	7,0 – 8,0	14,49 ± 0,50c	14,0 – 15,0	14,39 ± 0,49c	14,0 – 15,0
25%	7,18 ± 0,39c	7,0 – 8,0	7,17 ± 0,38c	7,0 – 8,0	7,15 ± 0,36b	7,0 – 8,0	7,13 ± 0,34b	7,0 – 8,0	14,44 ± 0,50c	14,0 – 15,0	14,43 ± 0,49c	14,0 – 15,0
50%	5,18 ± 0,39b	5,0 – 6,0	5,19 ± 0,39b	5,0 – 6,0	7,14 ± 10,34b	7,0 – 8,0	7,10 ± 0,31b	7,0 – 8,0	12,55 ± 0,50d	12,0 – 13,0	12,46 ± 0,50d	12,0 – 13,0
75%	5,20 ± 0,40b	5,0 – 6,0	5,23 ± 0,42b	5,0 – 6,0	7,17 ± 0,37b	7,0 – 8,0	7,23 ± 0,42b	7,0 – 8,0	12,56 ± 0,50d	12,0 – 13,0	12,50 ± 0,51d	12,0 – 13,0
100%	12,15 ± 0,36d	12,0 – 13,0	12,18 ± 0,39d	12,0 – 13,0	7,20 ± 0,40b	7,0 – 8,0	7,17 ± 0,38b	7,0 – 8,0	19,52 ± 0,51e	19,0 – 20,0	19,50 ± 0,51e	19,0 – 20,0

[#]Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão; IV (Intervalo de Variação) em dias. Experimento (4X).

O peso de larva madura (L3) apresentou diferença significativa ($P < 0,0001$) entre as concentrações do Brasil e as de Cuba quando comparadas com os grupos controle com/sem DMSO. O menor peso foi para a concentração de 10% ficando para o óleo essencial da espécie do Brasil $17,53 \pm 1,23\text{mg}$ e para espécie de *C. citratus* coletada em Cuba $17,49 \pm 1,27\text{mg}$, e o maior para as concentrações de 50% = $27,01 \pm 2,18\text{mg/Brasil}$ e $26,97 \pm 2,38\text{mg/Cuba}$, ficando os grupos controle com DMSO = $21,59 \pm 1,39\text{mg}$ e sem DMSO = $21,50 \pm 1,76\text{mg}$. Dípteros necrófagos são mais adaptados a pupar mesmo quando o peso final está abaixo da média estimada para outras espécies (MENDONÇA et al., 2011), apesar de a espécie ser diferente das testadas em nosso experimento, segundo VON ZUBEN (1998), *C. megacephala* necessita pesar no mínimo 30,1 mg para conseguir empupar. Neste estudo observou-se que o óleo essencial diminuiu o peso dos insetos nas concentrações de 5, 10, 25% dos óleos do Brasil ($19,60 \pm 1,41$, $17,53 \pm 1,23$ e $20,37 \pm 0,95\text{mg}$, respectivamente) e para Cuba ($19,50 \pm 1,32$, $17,49 \pm 1,27$ e $20,36 \pm 0,93\text{mg}$, respectivamente), com diferença significativa ($P < 0,0001$) quando comparados entre as concentrações e com os grupos controle com DMSO ($21,59 \pm 1,39\text{ mg}$) e sem DMSO ($21,50 \pm 1,76\text{mg}$), apesar dessa diminuição foram capazes de pupar. Por outro lado houve um aumento no peso das larvas tratadas com as concentrações 50% ($27,01 \pm 2,18\text{mg/Brasil}$ e $26,97 \pm 2,38\text{mg/Cuba}$) e 100% ($22,05 \pm 1,65\text{ mg/Brasil}$ e $22,39 \pm 2,19\text{mg/Cuba}$) com diferença significativa quando comparadas com os grupos controles com/sem DMSO (Tabela 4).

No presente estudo as menores concentrações (5, 10 e 25%) tanto do óleo essencial do Brasil como de Cuba foram capazes de reduzir o peso larval, este resultado corrobora os de CAMPOS et al., (2012) que sugerem que é possível que a atividade do componente principal dos óleos essenciais seja modulada em menores concentrações.

Segundo CHAPMAN (1998), a reserva de lipídios durante o período de alimentação aumenta, mas é reduzida no estágio em que o inseto não se alimenta e sua quantidade depende do estágio de crescimento e as condições alimentares. EBADOLLAHI et al. (2013) observaram que o óleo de *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze (Lamiaceae) sobre a larva de coleoptera *Trinbolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae) possuía um efeito tóxico na fisiologia desse inseto. A média total do carboidrato e os conteúdos de lipídios e proteínas em todos os tratamentos reduziram significativamente quando comparados com o grupo controle. Possivelmente essa redução pode estar relacionada a um forte efeito de deterrência do óleo de

A. foeniculum. KHOSRAVI et al. (2010) também obteve resultados similares na redução na taxa de lipídios e carboidratos de *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) quando foi tratada com o extrato de *Artemisia annua* L. (Asteraceae). Larvas de *C. putoria* expostas ao extrato aquoso de folha de *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn apresentaram uma diminuição de peso na concentração de 25% (45,8mg) e um aumento nas concentrações 5 e 10% (47,0 e 51,2mg) (CARRIÇO et al., 2014). No que concerne aos indivíduos dos grupos teste, não foram verificadas alterações discrepantes no peso, seja dentre as larvas testadas nas diferentes diluições do óleo, ou dentre os diferentes grupos avaliados (Brasil e Cuba).

Ao contrário do que foi observado em nossos estudos MENDONÇA et al. (2011) testando o efeito do látex de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) topicamente sobre larvas de *C. megacephala*, observaram que larvas expostas ao látex na concentração de 1,0% eram as mais leves (60,2mg) e a na concentração de 2% eram as mais pesadas (76 mg), enquanto que para o grupo controle o peso era de 61mg, mesmo sendo com espécies diferentes e com plantas diferentes o peso está muito maior do que o encontrado em nosso experimento. Segundo (LEVOT et al.; 1979; REIS et al., 1994), apenas os indivíduos que atingirem o peso larval mínimo para a pupação, característico para cada espécie, terão condições de prosseguir o seu desenvolvimento e originar adultos viáveis. JÚNIOR et al. (2007) ao testarem amida tetraidopiperina, derivado sintético de piperina, em adultos de *M. domestica*, verificaram uma maior suscetibilidade entre machos e fêmeas, podendo isto estar associado entre outros fatores, a diferenças de peso entre os insetos, visto serem as fêmeas mais pesadas do que os machos.

Tabela 3. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionário, de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	12,0	12,0	2,0	2,0	12,0	12,0
DMSO	13,0	13,0	2,0	2,0	14,0	14,0
5%	34,0	35,0	7,0	21,0	63,0	62,0
10%	34,0	35,0	7,0	23,0	62,0	63,0
25%	40,0	41,0	15,0	13,0	64,0	65,0
50%	45,0	46,0	9,0	10,0	75,0	73,0
75%	55,0	56,0	10,0	22,0	78,0	78,0
100%	66,0	67,0	15,0	14,0	88,0	87,0

Experimento (4X).

Tabela 4: Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)				Razão Sexual	
	Brasil	Cuba	IV		Brasil	Cuba
	X ± DP [#]	X ± DP [#]	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	21,50 ± 1,76a	21,50 ± 1,76a	19,0 – 24,4	19,0 – 24,4	0,50	0,50
DMSO	21,59 ± 1,39a	21,59 ± 1,39a	15,0 – 24,2	15,0 – 24,2	0,51	0,51
5%	19,60 ± 1,41b	19,50 ± 1,32b	17,2 – 21,5	17,5 – 21,0	0,51	0,49
10%	17,53 ± 1,23c	17,49 ± 1,27c	15,8 – 20,6	15,6 – 20,6	0,54	0,53
25%	20,37 ± 0,95d	20,36 ± 0,93d	19,4 – 21,8	19,4 – 21,8	0,53	0,53
50%	27,01 ± 2,18e	26,97 ± 2,38e	21,9 – 33,0	24,8 – 33,0	0,53	0,52
75%	21,50 ± 2,65f	21,35 ± 2,69f	17,4 – 25,3	17,2 – 25,2	0,53	0,48
100%	22,05 ± 1,65f	22,39 ± 2,19f	19,5 – 25,6	19,0 – 25,6	0,56	0,54

[#]Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação) em dias. Experimento (4X).

O período larval de *M. domestica* obteve taxas de mortalidade variando de 34%/Brasil e 35%/Cuba na concentração de 5% até 66%/Brasil e 68%/Cuba na concentração de 100%, não havendo diferença na mortalidade entre os óleos do Brasil e de Cuba, porém nos grupos controle com DMSO a mortalidade alcançou 13% e no sem DMSO 12%. KUMAR et al. (2011b) observaram uma alta taxa de mortalidade em larvas de *M. domestica* quando foram tratadas com vários óleos. A atividade larvicida mais forte foi encontrada no óleo da Hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.– Lamiaceae), sendo que após 24h *M. piperita* e *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae) mostraram uma mortalidade de 94 e 87%, respectivamente, com os óleos das espécies *C. citratus* e *Mentha citrata* L (Lamiaceae) a taxa de mortalidade foi 77 e 67%.

O período de desenvolvimento pós-embriônico mais afetado foi o de neolarva a adulto mostrando uma mortalidade acima de 60% em todas as concentrações, ficando o controle com DMSO 14% e sem DMSO 12%. MELLO et al. (2010) testaram o efeito do látex *E. splendens* sobre larvas de *M. scalaris*. A viabilidade foi menor que 51,5% nas concentrações do látex testadas (5µg/mL, 10µg/mL e 20µg/mL) nos estágios pupal e de neolarva a adulto, e para o grupo controle (67,4% /estágio pupal e 64% para o estágio de neolarva a adulto).

A mortalidade no período larval e no período de neolarva a adulto demonstrou ser dose dependente nas concentrações dos óleos essenciais de Cuba e do Brasil (Tabela 3), não havendo diferença entre eles. Em relação ao período pupal, as concentrações menos letais foram as de 5 e 10% (Brasil) e as de 25 e 100% (Cuba). Por outro lado, DELEITO & MOYA-BORJA (2008) utilizando diferentes concentrações de óleo de nim, encontraram valores para a mortalidade de pupas superiores a 30% em *L. cuprina*. Resultados semelhantes foram observados por MOGNATO (2000), onde o prolongamento do período pupal e mesmo a supressão da capacidade de emergência são influenciados pelos componentes desta planta.

O período mais sensível foi o de neolarva a adulto que atingiu uma mortalidade superior a 60% nos dois óleos essenciais (Brasil/Cuba). Altas mortalidades em Muscidae também foram verificadas por ABDEL HALIM & MORSY (2005) após usarem os óleos de *Eucalyptus globulus* a uma concentração de 0.5%, 0.3, 0.2 e 0.1% contra larva de 3º instar de *M. domestica*, verificaram uma taxa de mortalidade e 90% e a pupa não emergiu em adultos. OLIVO et al. (2008) observaram uma maior eficácia em torno de 79,3 e de 92,1%, quando testaram *in vitro* teleóginas de bovinos nas

concentrações 1, 10, 25, 50, 100% de óleo de citronela. Esses autores verificaram que a medida que aumentava a concentração do óleo, ocorria uma inibição das posturas de ovos de teleóginas ingurgitadas, além de observarem que o produto muito concentrado é melhor absorvido, porém depois forma um filme protetor, não deixando o óleo penetrar. Em nossos experimentos observamos um resultado diferente nos períodos larval e de neolarva a adulto em ambos os óleos (Brasil/Cuba); as concentrações maiores foram mais letais, possivelmente devido ao fato de o tegumento das larvas de *M. domestica* não deixar criar esse filme protetor. KNIO et al. (2008) testando larvas do mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) com os óleos de *C. sativum*, *Petroselinum crispum*, *Pimpinella anisum*, e *Thymus vulgaris*, demonstraram que o óleo de sementes de *P. crispum* e *P. anisum*, bem como dos frutos de *C. sativum* e inflorescência de *T. vulgaris* apresentaram potencial larvicida e que o constituinte majoritário de cada óleo testado demonstrou ser o responsável por esta atividade. Apesar de alguns monoterpenoides serem usados comercialmente, o seu mecanismo de ação não está muito bem elucidado (GRODNITZKY; COATS, 2002). Sugere-se que, possivelmente, seria a inalação dos óleos pelos espiráculos dos insetos (YANG et al., 2005), ou que esses monoterpenos podem atuar sobre outros sítios, como o citocromo P450 (LEE et al., 2001). Segundo MIYAZAWA et al. (1997), alguns monoterpenos provenientes de óleos essenciais *in vitro* são inibidores competitivos da acetilcolinesterase.

A mortalidade de *M. domestica* no período larval, pupal e neolarva a adulto foi afetada de maneira dose-dependente em todas as concentrações dos óleos essenciais de *C. citratus* do Brasil e de Cuba. A bioeficiência dos óleos essenciais de *M. piperita*, *Zingiber officinalis* Roscoe (Zingiberaceae), *Emblica officinalis* Gaertn. (Phyllanthaceae), *Cinnamomum verum* (Lauraceae), *E. globulus*, *C. citratus*, *Pogotemoncablin* Benth. (Lamiaceae), *Vetiver zizanoides* L. (Poaceae) e *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) também foram verificadas contra *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae), *M. domestica*, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Bovcola ocellatus* (Phthiraptera: Trichodectidae) por RICE & COATS (1994), ISMAN (2000), PAVELA (2005; 2006), SAJFRTOVA et al., (2009), KUMAR et al. (2011a) e TALBERT & WALL (2012).

KUMAR et al. (2011b) testando vários óleos essenciais em *M. domestica* observaram uma alta taxa de mortalidade após 48h de exposição; para o óleo de

C. citratus foi verificada uma mortalidade de 77%. Larvas e pupas de *M. domestica* mostraram uma concentração letal (CL₅₀) de 0,41 µL/cm₂ e uma percentagem de inibição (PIR) de 7 e 7,3%, respectivamente (KUMAR et al., 2013). Nos experimentos os resultados mostraram uma concentração letal (CL₅₀) de 4,25 e 3,24% para os óleos do Brasil e de Cuba, respectivamente, para o período de neolarva a adulto. ABDEL HALIM; MORSY (2006) também observaram uma alta mortalidade ao usarem óleos essenciais de *Cupressus macrocarpa* Hartw. (Cupressaceae) e *Alpinia officinarum* Hance (Zingiberaceae) contra *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp, 1883) (Muscidae: Azeliinae). Extratos aquosos de plantas são capazes de matar o 2º estágio larval de *M. domestica* em várias concentrações. Os extratos mais efetivos são os de casca de *Calotropis procera* (Aiton) (Asclepiadaceae) onde obtiveram uma CL₅₀= 5399,93ppm e de *Piper longum* L. (Piperaceae) uma CL₅₀= 8149,33ppm e o extrato de *Polygonum hydropiper* L. (Polygonaceae) uma CL₅₀ de 7276,00ppm (ISLAM & AKTAR, 2013).

Possivelmente esses óleos essenciais causam nos insetos, dificuldades de se alimentar e problemas na absorção de nutrientes, diminuindo a sobrevivência das moscas tratadas.

Várias plantas induzem anormalidades em moscas produtoras de miíases, como por exemplo, romã (*Punica granatum* L.) (Lythraceae) aumentando a taxa de mortalidade e afetando o seu ciclo de vida (MORSY et al., 1998a). Em nossos experimentos foram observadas deformações nos estágios adultos em todas as concentrações, conforme aumentava a concentração as deformidades aumentavam, impossibilitando a cópula (Tabela 5). Foram observadas as seguintes deformidades nos adultos: tamanho reduzido, ptilínio não retraído e asa não inflada. Nos experimentos não foram observados nenhuma alteração nas cores dos insetos. KHATER (2003) registrou deformações em larvas de 3º estágio de *M. domestica* com *Sesame* (Pedaliaceae), *Nigella* (Ranunculaceae), cebola *Allium cepa* (Alliaceae), diflubenzuron e pyriproxfen. As mesmas chegaram ao estágio de pupa, porém não foram viáveis. Deformidades também foram observadas por KHATER & SHALABY (2008) em larva, pupa e no estágio adulto de *Culex pipiens*, *Lucilia sericata* e *M. domestica* quando foi tratado com o óleo essencial, aumentando a taxa de mortalidade nos diferentes estágios. O que já havia sido confirmado por FREITAS et al. (2007) ao estudarem a ação do fitoextrato de *Melia azedarach* L (Meliaceae) sobre o desenvolvimento de *M. domestica*, e observaram que a ação do extrato aquoso a 10% exerce atividade negativa sobre características biométricas e morfométricas, promovendo a redução de tamanho e da performance reprodutiva. KHATER (2012) e KHATER et al. (2012), ao imergirem larvas de *M. domestica* em látex de *C. procera* (Ait.) Ait. F.(Asclepiadaceae) verificaram que esse extrato era capaz de induzir aberrações morfogenéticas nos adultos das moscas, além do seu extrato metanólico ser capaz de controlar esses insetos no criadouro.

Os óleos essenciais de *C. citratus* (Brasil e Cuba) mostraram eficiência com relação à ação sobre o período pré-embriônico de *M. domestica*, não havendo diferença entre a ação dos óleos dos diferentes países, com relação à razão sexual. O óleo essencial de *C. citratus* do Brasil e de Cuba não foi capaz de interferir nesse parâmetro. Os dados do presente estudo corroboram com os de ELKATTAN et al. (2011) que também observaram que o uso dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), *Pelargonium zonale* L'Hér (Geraniaceae), *Cupressus macrocarpa* L. (Cupressaceae), *Cyperus rotundus* L.(Cyperaceae) e *Acacia nilótica* L. (Fabaceae) em *M. domestica* não produziram alteração na razão sexual.

Tabela: 5: Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Musca domestica</i>
Controle		0,00
DMSO		0,00
Brasil	5%	38,67
	10%	55,26
	25%	76,39
	50%	81,13
	75%	86,67
	100%	100,00
Cuba	5%	37,66
	10%	56,76
	25%	78,57
	50%	80,65
	75%	88,64
	100%	100,00

Experimento (4x).

Larvas de *L. cuprina* tratadas com os óleos essenciais de *C. citratus* coletadas em Cuba e no Brasil mostraram os períodos pós-embrionários (larval, pupal e neolarva a adulto) prolongados e apresentaram diferença significativa ($P < 0,0001$) quando comparados com os grupos controles com/sem DMSO. As concentrações de 10, 25 e 50% do Brasil ($4,05 \pm 0,21$; $4,07 \pm 0,30$ e $4,11 \pm 0,41$ dias) e em Cuba ($4,03 \pm 0,25$; $4,13 \pm 0,39$ e $4,14 \pm 0,46$ dias) foram os menores períodos, não mostrando diferença significativa quando comparadas entre si. O maior período foi à concentração de 75% ($5,11 \pm 0,63$ dias/Brasil e $5,18 \pm 0,63$ dias/Cuba) não havendo diferença entre as localidades de Cuba e do Brasil.

O menor período pupal foi com 5 e 75% para o Brasil ($8,60 \pm 0,78$ e $8,42 \pm 0,88$ dias respectivamente) e para Cuba ($8,69 \pm 0,84$ e $8,42 \pm 0,93$ dias, respectivamente), o maior período pupal foi para concentração de 10% ($10,05 \pm 0,86$ dias/ Brasil e $10,11 \pm 0,84$ dias/Cuba) apresentando diferença significativa quando comparados com o controle com DMSO ($4,72 \pm 0,58$ dias) e sem DMSO ($4,67 \pm 0,60$ dias). O período pupal em todas as concentrações (óleo Brasil e Cuba) apresenta o dobro do tempo quando comparado com os grupos controle com/sem DMSO (Tabela 6). Esse aumento no período de desenvolvimento também ocorreu em Triatomíneos da espécie *Rhodnius prolixus* Stal quando foi tratado com lignoide licarina A (CABRAL et al., 2000). KUMAR et al. (2011b) observaram a mesma taxa de eficiência para os diferentes óleos de *M. piperita*, *M. citrata* e *E. globulus* dos quais obtiveram um período pupal de seis dias, fazendo com que houvesse uma supressão na emergência de adultos de *M. domestica*. Essa alteração se deve a alguns compostos extraídos de plantas que são capazes de modular o sistema endócrino dos insetos e com isso alteram o processo fisiológico dos insetos (BOWER; BOWER et al. 1976).

Com relação ao período de neolarva a adulto de *L. cuprina* tratadas com o óleo essencial do Brasil e de Cuba houve um aumento em todas as concentrações testadas diferindo significativamente quando comparadas com o controle com/sem DMSO. O menor período foi para a concentração 5% ($12,84 \pm 1,01$ dias/Brasil e $12,86 \pm 1,50$ dias/Cuba) e o maior período foi para a concentração 10% ($14,11 \pm 0,85$ dias/Brasil e $14,20 \pm 0,90$ dias/Cuba) (Tabela 6). Esse período foi o mais afetado resultando em uma mortalidade superior a 50% em todas as concentrações testadas. Ao contrário dos nossos resultados, CRUZ (2012), ao testar óleo de pimenta longa na concentração de 50mg/L verificou uma redução na longevidade de *S.*

frugiperda, vindo em seguida, óleo de pimenta longa 50mg/L + Bta e óleo de pimenta longa 30 mg/L, em relação ao controle (DMSO+H₂O destilada). Certos extratos de plantas ajudam no controle de *L. sericata* (Meigen, 1826) (EL-KHATEEB et al. 2003; KHATER & KHATER, 2009a). KHATER et al. (2011) testando óleos essenciais em *L. sericata* observaram que eles eram capazes de alterar os parâmetros biológicos, tais como as taxas de pupação, emergência de adultos e a razão sexual desses insetos, o que foi confirmado por PUSHPANATHAN et al (2006), ao testarem o efeito de *C. citratus* sobre larvas, ovos e sua ação repelente contra esses dípteros culicídeos. Observaram 100% de ação ovicida em uma concentração a 300ppm, no teste de repelência mostrou uma proteção de 100% na concentração de 1,0; 2,5 e 5,0 mg/cm² em 03:00, 04:00 e 05:00 horas respectivamente.

Tabela 6. Duração dos estágios pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)												
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto				
	Brasil	IV	Cuba	IV	Brasil	IV	Cuba	IV	Brasil	IV	Cuba	IV	
X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)	X ± DP [#]	(Dias)
Controle	3,24 ± 0,43a	3,0 – 4,0	3,24 ± 0,43a	3,0 – 4,0	4,72 ± 0,58a	4,0 – 6,0	4,72 ± 0,58a	4,0 – 6,0	7,96 ± 0,67a	7,0 – 10,0	7,96 ± 0,67a	7,0 – 10,0	
DMSO	3,17 ± 0,38b	3,0 – 4,0	3,17 ± 0,38b	3,0 – 4,0	4,67 ± 0,60a	4,0 – 6,0	4,67 ± 0,62a	4,0 – 6,0	7,81 ± 0,51a	7,0 – 10,0	7,81 ± 0,51a	7,0 – 10,0	
5%	4,22 ± 0,41b	4,0 – 5,0	4,25 ± 0,44b	4,0 – 5,0	8,60 ± 0,78b	8,0 – 11,0	8,69 ± 0,85b	8,0 – 11,0	12,84 ± 1,01b	12,0 – 16,0	12,86 ± 1,01b	12,0 – 16,0	
10%	4,05 ± 1,21b	4,0 – 5,0	4,03 ± 0,25b	4,0 – 5,0	10,05 ± 0,86c	8,0 – 12,0	10,11 ± 0,84c	8,0 – 12,0	14,11 ± 0,85c	12,0 – 16,0	14,20 ± 0,90c	12,0 – 10,0	
25%	4,07 ± 0,30b	4,0 – 6,0	4,13 ± 0,39b	4,0 – 6,0	9,75 ± 0,99c	8,0 – 11,0	9,90 ± 0,88c	8,0 – 11,0	13,86 ± 1,02cd	12,0 – 16,0	14,11 ± 1,01c	12,0 – 16,0	
50%	4,11 ± 0,41b	4,0 – 6,0	4,14 ± 0,46b	4,0 – 6,0	9,74 ± 0,92c	8,0 – 11,0	9,79 ± 0,90c	8,0 – 11,0	13,88 ± 1,11ce	12,0 – 17,0	13,97 ± 1,13cfg	12,0 – 16,0	
75%	5,11 ± 0,63b	4,0 – 6,0	5,18 ± 0,63e	4,0 – 6,0	8,42 ± 0,88b	6,0 – 9,0	8,42 ± 0,93b	6,0 – 9,0	13,57 ± 1,10def	10,0 – 15,0	13,59 ± 1,16deg	10,0 – 15,0	
100%	4,17 ± 0,53b	4,0 – 6,0	4,21 ± 0,58b	4,0 – 6,0	9,78 ± 0,80c	8,0 – 10,0	9,67 ± 0,93 ^c	8,0 – 11,0	14,10 ± 1,15ce	12,0 – 17,0	14,03 ± 1,20cfg	12,0 – 17,0	

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação) em dias. Experimento (4X).

O peso das larvas maduras de *L. cuprina* também foi muito afetado; sendo o menor peso atingido pelas concentrações de 10% ($26,85 \pm 2,94$ mg/ Brasil) e de 50% ($26,72 \pm 2,67$ mg/ Cuba) e os mais pesados pelas concentrações de 5% ($35,31 \pm 3,74$ mg/Brasil e $34,79 \pm 3,87$ mg/Cuba), com diferença significativa quando comparados com os grupos controle com DMSO ($32,45 \pm 2,47$ mg) e sem DMSO ($33,19 \pm 3,41$ mg) (Tabela 7). CABRAL et al. (2004) trabalhando com neolignana YG extraída de canela- da Índia na concentração de 100 µg/mL, verificaram o efeito tóxico sobre 56% das pupas de *C. megacephala*, com redução de 6% no peso das mesmas, sob condições de laboratório. Sugerindo que houve a absorção da neolignana pela cutícula de quitina do pupário. Os óleos essenciais também têm se mostrado efetivo no controle de diversas pragas de grãos armazenados como, por exemplo, o óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (Amaranthaceae) e alguns de seus constituintes isolados como Ascaridole e Isoascaridole apresentaram CL_{50} de apenas 2,12, 0,86 e 2,16 µg g⁻¹ de peso do inseto, respectivamente, para adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae) (CHU et al. 2011). CRUZ (2012) verificou que lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) submetidas aos tratamentos com o óleo de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) (Myrtaceae) associado ou não ao Bta Xentari® WG (*B. thuringiensis* subsp. *aizawai* - Bta) (1000 mg/L) apresentam uma redução significativa no peso larval em relação ao grupo controle (DMSO+H₂O destilada).

Tabela 7: Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba

Tratamento	Peso (mg)					
	Brasil		Cuba		Razão Sexual	
	X ± DP [#]	X ± DP [#]	Brasil IV	Cuba IV	Brasil	Cuba
Controle	33,19 ± 3,41ab	33,19 ± 3,41ab	26,87 – 37,37	26,87 – 37,37	0,52	0,52
DMSO	32,45 ± 2,47ab	32,45 ± 2,47ab	28,20 – 36,83	28,20 – 36,83	0,52	0,52
5%	35,31 ± 3,74c	34,79 ± 3,87ci	28,00 – 38,60	27,30 – 38,40	0,53	0,49
10%	26,85 ± 2,94d	27,49 ± 3,09d	21,60 – 32,40	21,60 – 33,40	0,49	0,52
25%	31,91 ± 4,61ae	32,21 ± 4,79abg	11,00 – 36,60	13,00 – 37,20	0,48	0,52
50%	27,26 ± 2,84d	26,72 ± 2,67d	24,20 – 32,40	23,20 – 31,40	0,48	0,52
75%	32,53 ± 3,16abf	33,44 ± 3,19bi	19,00 – 39,00	21,00 – 39,00	0,49	0,51
100%	30,96 ± 3,12efgh	31,88 ± 3,51abh	26,25 – 35,20	26,25 – 36,20	0,49	0,51

[#]Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (4X).

Os óleos testados foram altamente eficazes contra *L. cuprina*, com relação ao período larval matou acima de 30% em todas as concentrações do óleo do Brasil e de Cuba, ficando o controle com DMSO (14%) e sem DMSO (12%). No período pupal a maior mortalidade ocorreu nas concentrações de 25 e 100%, atingindo 38 e 44% no Brasil e 39 e 42% em Cuba, respectivamente. Os grupos controle com e sem DMSO obtiveram somente 1% de mortalidade. De todos os períodos de desenvolvimento pós-embrionário o mais afetado foi o de neolarva a adulto, que obteve uma mortalidade muito alta, acima de 50% em todas as concentrações testadas nos dois óleos (Brasil e Cuba), ficando os grupos controles com DMSO (17%) e sem DMSO com 13% (Tabela 8). Estes dados estão de acordo com os encontrados por KHATER et al. (2009b), que ao testarem óleos essenciais de alecrim e camomila em piolhos de búfalo *Haematopinus tuberculatus* (Burmeister, 1839) (Phthiraptera: Haematopinidae) verificaram que eles se mostraram letais, mostrando em experimentos *in vitro* CL₅₀ de 18,67 e 22,79%, respectivamente. MARTINS (2006) também observou uma eficiência de 50% no controle de teleóginas (6,1%) e larvas (4,1%) de *Boophilus microplus* ao testarem citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) na concentração de 10%. Não havendo eclosão dos ovos destas teleóginas na concentração de 7,14%. CRUZ (2012) verificou que o óleo de pimenta longa e o do cravo da Índia associados ao produto Xentari®, agiram sinergicamente interferindo na sobrevivência diária, no peso das lagartas de *S. frugiperda*, na duração do período larval, no peso pupal, na duração do período pupal, na razão sexual, na fecundidade, fertilidade e nos aspectos imunológicos (produção de óxido nítrico e fenoloxidase), além dos óleos puros afetarem a histofisiologia reprodutiva dessa lagarta.

Tabela 8. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	12,0	12,0	1,0	1,0	13,0	13,0
DMSO	14,0	14,0	1,0	1,0	17,0	17,0
5%	54,0	56,0	11,0	12,0	59,0	61,0
10%	43,0	45,0	27,0	26,0	58,0	60,0
25%	33,0	36,0	38,0	39,0	57,0	59,0
50%	41,0	43,0	20,0	21,0	54,0	56,0
75%	46,0	48,0	7,0	9,0	50,0	53,0
100%	46,0	49,0	44,0	42,0	70,0	74,0

Experimento (4X).

KHATER & KHATER (2009a) ao testarem em *L. cuprina* os óleos de *Trigonella foenum-graecum* Fenugreek (Fabaceae), *Apium graveolens* L. (Apiaceae), *Raphanus sativus* L. e *Brasica campestris* L. (Brassicaceae), observaram que certas características biológicas foram afetadas e a taxa de pupação que alcançou 6,67% após ser tratada com 16% de óleo de *T. foenum-graecum*. Quando foi tratada com 8% do óleo de *B. campestris* não houve emergência de adultos, sendo capaz de afetar a emergência dos adultos, ficando o número de machos emergidos duas vezes maior que os da fêmea após o tratamento com 12% do óleo de *Raphanus sativus* e 16% de *T. foenum-graecum* e *A. graveolens*. Em nossos estudos os óleos essenciais testados (Brasil e Cuba) não afetaram a razão sexual em nenhuma concentração. Segundo WILLIAMSON et al. (2007), Na sua maior parte os óleos essenciais das plantas possuem terpenoides de baixo peso molecular que alteram comportamentalmente as respostas dos insetos, sendo usados como inseticidas e supressoras de apetite em insetos (LANKAS et al., 1989), esses compostos parecem ser lipofílicos para serem solúveis na hemolinfa nos invertebrados e em linfa, passam pela cutícula utilizando a traqueia como rota (PALEVITCH et al., 1994).

No presente estudo a aplicação tópica do óleo essencial de *C. citratus* coletado no Brasil e em Cuba gerou adultos de *L. cuprina* deformados, ficando a concentração de 75% (12%) com a menor quantidade de indivíduos deformados para o óleo do Brasil e Cuba, e a de 100% (43 /Brasil e 45% /Cuba) a que mais gerou indivíduos deformados (Tabela 9). Foram observadas as seguintes deformidades nos adultos: tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor. KHATER et al. (2011), ao testarem quatro óleos essenciais egípcios (alface - *Lactuca sativa* L. (Asteraceae), camomila - *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae), anis - *Pinpinella anisum* L. (Apiaceae) e alecrim- *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) em larvas de terceiro instar de *L. cuprina*, verificaram que o óleo de alface foi o que mais causou deformidades nas larvas (57%), pupas (50%) e nos adultos (50%), resultando em larvas pequenas, encolhidas, pigmentadas e retorcidas além de ulcerações na cutícula. As pupas apresentaram o pupário de tamanho reduzido, larviforme, rachado e distorcido. Os adultos deformados se apresentavam tamanhos reduzidos e deformações nas asas, nas pernas e no abdômem. ELKATTAN et al. (2011) também observaram que, ao aplicarem *Lantana camara* L. (Verbenaceae), *Pelargonium zonale* L'Hér (Geraniaceae), *Cupressus macrocarpa* L. (Cupressaceae), *Cyperus rotundus* L.

(Cyperaceae) e *Acacia nilótica* L. (Fabaceae) em *M. domestica*, foram induzidas diferentes deformações. As concentrações maiores foram as que produziram mais deformações. Com relação a razão sexual o óleo essencial *C. citratus* do Brasil e de Cuba não interferiram na razão sexual de *L. cuprina*, estes dados corroboram com KHATER et al. (2011) que ao testar óleos essenciais egípcios usando a mesma espécie de mosca não observarm alteração na razão sexual.

Tabela 9: Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Lucilia cuprina* (Diptera:Caliphoridae) tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas
		<i>Lucilia cuprina</i> (%)
	Controle	0,00
	DMSO	0,00
Brasil	5%	29,27
	10%	26,83
	25%	21,43
	50%	16,30
	75%	12,00
	100%	43,33
Cuba	5%	30,00
	10%	27,16
	25%	21,95
	50%	16,67
	75%	12,24
	100%	44,83

Experimento (4X).

As larvas de *C. megacephala* tratadas com diferentes concentrações do óleo extraídos da espécie de *C. citratus* coletados no Brasil e em Cuba apresentaram diferença significativa ($P > 0,0001$) em todas as concentrações 5, 10, 25, 50, 75 e 100% ($4,79 \pm 0,41$; $4,66 \pm 0,77$; $4,76 \pm 0,56$; $5,57 \pm 0,50$; $4,07 \pm 0,26$; $4,68 \pm 0,81$ dias/Brasil, respectivamente) e ($4,83 \pm 0,38$; $4,68 \pm 0,77$; $4,79 \pm 0,55$; $4,64 \pm 0,48$; $4,07 \pm 0,26$ e $4,72 \pm 0,78$ dias/Cuba, respectivamente) quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($4,38 \pm 0,49$ dias) e sem DMSO ($4,42 \pm 0,50$ dias) (Tabela 10). Os óleos de Cuba e do Brasil atrasaram o período larval em quase todas as concentrações com exceção da concentração de 75% ($4,7 \pm 0,26$ dias Brasil/ Cuba). CABRAL et al. (2007a), ao testarem neolignanas em larvas maduras de *C. megacephala* observaram um aumento nos períodos larval, pupal e neolarva a adulto (6,07; 5,48 e 10,48 dias, respectivamente), quando comparadas com os grupos controle com acetona (5,92 dias) e sem acetona (5,51 dias). Em nossos experimentos todos os períodos (larval, pupal e de neolarva a adulto) se mostraram sensíveis ao óleo essencial do Brasil e de Cuba, atrasando em dias a maioria das concentrações, com exceção da concentração de 50% no período pupal ($3,74 \pm 0,76$ dias/Brasil e $3,82 \pm 0,76$ dias/Cuba) e para o período de neolarva a adulto ($9,30 \pm 0,76$ dias /Brasil e $9,48 \pm 0,84$ dias/ Cuba) que encurtaram em dias, quando comparados com os grupos controle com DMSO ($9,54 \pm 0,61$ dias) e sem DMSO ($9,63 \pm 0,60$ dias).

Tabela 10. Duração dos estágios pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#a	IV (Dias)
Controle	4,42 ± 0,50a	4,0 - 5,0	4,42 ± 0,50a	4,0 - 5,0	5,23 ± 0,42a	5,0 - 6,0	5,23 ± 0,42a	5,0 - 6,0	9,63 ± 0,60ac	9,0 - 11,0	9,63 ± 0,60ac	9,0 - 11,0
DMSO	4,38 ± 0,49a	4,0 - 5,0	4,38 ± 0,49a	4,0 - 5,0	5,18 ± 0,44a	4,0 - 6,0	5,18 ± 0,44a	4,0 - 6,0	9,54 ± 0,61a	8,0 - 11,0	9,54 ± 0,61a	8,0 - 11,0
5%	4,79 ± 0,41b	4,0 - 5,0	4,83 ± 0,38b	4,0 - 5,0	6,02 ± 0,15be	6,0 - 7,0	6,06 ± 0,25efg	6,0 - 7,0	10,79 ± 0,40b	10,0 - 11,0	10,87 ± 0,48b	10,0 - 11,0
10%	4,66 ± 0,77b	4,0 - 7,0	4,68 ± 0,77b	4,0 - 7,0	6,03 ± 0,32b	5,0 - 7,0	6,05 ± 0,36bgh	5,0 - 7,0	10,66 ± 0,87b	9,0 - 14,0	10,68 ± 0,87b	9,0 - 14,0
25%	4,76 ± 0,56b	4,0 - 6,0	4,79 ± 0,55b	4,0 - 6,0	6,18 ± 0,58 b	5,0 - 8,0	6,23 ± 0,63bg	5,0 - 8,0	10,90 ± 0,88b	9,0 - 14,0	10,99 ± 0,84b	9,0 - 14,0
50%	5,57 ± 0,50c	5,0 - 6,0	5,64 ± 0,48c	5,0 - 6,0	3,74 ± 0,76c	3,0 - 6,0	3,82 ± 0,76c	3,0 - 6,0	9,30 ± 0,76a	8,0 - 11,0	9,48 ± 0,84ac	8,0 - 11,0
75%	4,67 ± 0,26d	4,0 - 5,0	4,07 ± 0,26d	4,0 - 5,0	5,72 ± 1,35d	5,0 - 9,0	5,78 ± 1,34deh	5,0 - 9,0	9,77 ± 1,37c	9,0 - 14,0	9,88 ± 1,38c	9,0 - 14,0
100%	4,68 ± 0,81b	3,0 - 7,0	4,72 ± 0,78b	3,0 - 7,0	6,07 ± 0,26bdf	6,0 - 7,0	6,13 ± 0,34bgi	6,0 - 7,0	10,62 ± 0,86b	9,0 - 13,0	10,64 ± 0,72b	9,0 - 13,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (4X).

MENDONÇA et al. (2011) verificaram que larvas de 3º instar de *C. megacephala* tratadas com 3% de látex de “Amapazeiro” *P. amapa* apresentavam um período larval maior quando comparada com o grupo controle (4,8 e 4,3 dias, respectivamente). Por outro lado, quando as larvas eram tratadas com uma concentração menor do látex (1%) tinham o seu período encurtado (3,9 dias) com diferença significativa quando comparada com o grupo controle. A duração do período pupal também foi reduzida com o tratamento de 1% e aumentada quando tratada com 2% do látex (5,0 e 6,0 dias respectivamente), diferindo do grupo controle e dos outros tratamentos. Com relação ao período de neolarva a adulto, a concentração de 1,0% do látex mostrou uma redução nesse período (9,0 dias) e as concentrações de 2 e 3% do látex aumentaram esse período em 10 dias para as duas concentrações. Para o grupo controle esse período levou 9,4 dias e diferiram significativamente de todos os outros tratamentos.

Em outro estudo, CABRAL et al. (2007b) observaram que yangambina extraída de *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae) foi capaz de influenciar a viabilidade dos ovos a adulto de *C. megacephala*, reduzindo em 20% de emergência dos adultos quando comparados com o grupo controle. Neste estudo, o período pupal apresentou o menor período na concentração de 50% ($3,74 \pm 0,76$ dias/ Brasil) e ($3,82 \pm 0,76$ dias/ Cuba), e o maior, na concentração de 25% ($6,18 \pm 0,58$ dias /Brasil e $6,23 \pm 0,63$ dias/Cuba) e estas concentrações apresentaram diferença significativa ($P < 0,0001$) quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($5,18 \pm 0,44$ dias) e sem DMSO ($5,23 \pm 0,42$ dias). O período de neolarva a adulto também teve o seu período mais longo na concentração de 25% ($10,90 \pm 0,88$ dias/Brasil) e ($10,99 \pm 0,84$ dias/Cuba) apresentando diferença significativa quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($9,54 \pm 0,61$ dias) e sem DMSO ($9,63 \pm 0,60$ dias), e o menor período na concentração 50% ($9,30 \pm 0,76$ dias/Brasil) e ($9,48 \pm 0,84$ dias /Cuba), não apresentando diferença significativa com os grupos controle sem DMSO ($9,63 \pm 0,60$ dias) e com DMSO ($9,54 \pm 0,61$ dias) entre os óleos do Brasil e de Cuba. Já KUMAR et al. (2011) relataram que o óleo de *Mentha piperita* L. (menta pimenta) (Lamiaceae) se mostrou altamente tóxico sendo capaz de aumentar o período larval e pupal de *M. domestica*.

O óleo de *C. citratus* interferiu no peso de *C. megacephala*, havendo uma diminuição no peso de quase todas as larvas tratadas em ambos os óleos (Brasil e

Cuba), com exceção da concentração de 50% que aumentou o peso ficando ($79,93 \pm 3,53$ mg/Brasil e $79,45 \pm 3,45$ mg/Cuba) com diferença significativa ($P < 0,0001$), quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($74,27 \pm 4,05$ mg) e sem DMSO ($74,51 \pm 4,11$ mg), porém entre os óleos não houve diferença significativa (Tabela 11). CABRAL et al. (2007a) encontraram uma diminuição de peso significativa quando trataram larvas de *C. megacephala* com as lignanas grandisina, yangambina e burchelina, não havendo diferença significativa entre elas, demonstrando assim que as estruturas moleculares desses compostos não interferiram no peso da larva. Em nossos experimentos apesar do óleo do Brasil e de Cuba apresentarem quantidades e alguns compostos diferentes, eles interferiram no peso de *C. megacephala* de maneira similar, não havendo diferença entre a ação dos óleos dos dois países. Ao testarem neolignana Yg extraída de canela-da Índia na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$ em *C. megacephala*, CABRAL et al. (2004) verificaram que esta substância foi tóxica para 56% das pupas, afetando o peso em 6%, sugerindo uma absorção da neolignana pela cutícula de quitina do pupário.

Tabela 11. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba

Tratamentos	Peso (mg)				Razão Sexual	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
	X ± DP	X ± DP	IV	IV		
Controle	74,51 ± 4,11a	74,51 ± 4,11 ^a	69,20 – 85,60	69,20 – 85,60	0,51	0,51
DMSO	74,27 ± 4,05a	74,27 ± 4,0 a	68,00 – 84,00	68,00 – 84,00	0,53	0,53
5%	57,57 ± 2,63be	57,35 ± 2,80b	50,00 – 62,10	51,50 – 62,50	0,50	0,52
10%	60,08 ± 5,86c	59,84 ± 5,91ce	52,00 – 60,90	52,00 – 70,60	0,47	0,52
25%	50,28 ± 5,28b	55,87 ± 5,86b	43,30 – 69,50	42,70 – 68,50	0,48	0,47
50%	79,93 ± 3,53d	79,45 ± 3,45d	73,30 – 96,00	73,30 – 96,00	0,40	0,46
75%	71,71 ± 8,93f	72,52 ± 9,55af	51,70 – 81,80	52,70 – 82,70	0,47	0,53
100%	56,62 ± 9,02b	56,88 ± 9,16b	33,00 – 67,04	31,00 – 67,10	0,46	0,52

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste . Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (4X).

Outro fator observado foi à razão sexual das moscas tratadas com óleos essenciais coletados no Brasil e em Cuba. A ação dos óleos essenciais do Brasil e de Cuba sobre os insetos se mostraram similares (Tabela 11), os valores se apresentaram equilibrados variando entre 0,46 e 0,53. Diferente dos resultados encontrados no estudo em questão CABRAL et al. (2008) observaram que uma fração do extrato de *Melia azedarach* (fração D) foi capaz de reduzir o peso pupal, inviabilizar os ovos, além de alterar a razão sexual (número fêmeas/número de machos) reduzindo o número de fêmeas (razão= 0,38) de *M. domestica*. Da mesma forma KHATER et al. (2011), ao testarem óleos de *Lactuca sativa* Linnaeus, 1753, *Matricaria chamomilla* Linnaeus, 1753, *Pimpinella anisum* Linnaeus 1753 e *Rosmarinus officinalis* Linnaeus, 1753 sobre larvas de 3º instar de *L. cuprina*, obtiveram como resultado subletal uma mudança na razão sexual do grupo teste, havendo predominância de machos sobre fêmeas atingindo a proporção de 4:1, além de interferirem na viabilidade dos adultos e determinarem a formação de algumas anomalias. De acordo com BRITO (2009), quando populações são analisadas com o objetivo de verificar a possibilidade de sobrevivência dos indivíduos seja envolvendo questões de manejo voltadas para recuperação e evitando a extinção, ou como é o caso deste estudo onde se busca a possibilidade de controlar o avanço de determinada espécie e restringindo os seus limites populacionais, um dos fatores que devem ser observados é a razão sexual. Espera-se que os indivíduos de determinada espécie mantenham a proporção de machos e fêmeas em torno de 1:1 de modo que não haja diferenças significativas, podendo ocasionar um desequilíbrio futuro como exemplificado no princípio de Fisher para espécies evolutivamente estáveis (FISHER, 1930).

Chrysomya megacephala foi afetada de maneira dose-dependente pelas concentrações do óleo essencial do Brasil e de Cuba, com exceção da concentração de 25% para o óleo essencial do Brasil no período pupal. No período de neolarva a adulto a concentração menos letal foi a de 25% (34%) no óleo essencial do Brasil e de 5% (37%) para o óleo de Cuba, ficando a maior mortalidade para a concentração de 100%, que matou 76% dos insetos no óleo essencial do Brasil e 79% no óleo de Cuba (Tabela 12). A mortalidade desse período ficou acima de 30% em todas as concentrações, ficando os grupos controle com/sem DMSO com 14% e 12% mortos respectivamente. Esta espécie foi a segunda mais afetada após o tratamento. Apesar de usar metodologia diferente da usado no experimento estudado KUMAR et al. (2013) ao testarem a atividade inseticida

do óleo de *C. citratus* e os monoterpenos Citral e 1,8-Cineole em *M. domestica* observaram que o método de fumegação com o óleo foi mais efetivo contra a larva de mosca com $CL_{50} = 48,6 \mu\text{l/L}$, a uma taxa de inibição percentual de 100% contra a pupa de *M. domestica*. O mesmo percentual de inibição foi encontrado nos experimentos com pupas usando os monoterpenos Citral e o 1,8 – cineole. Outros autores avaliaram ação repelente ou deterrente de plantas sobre outros grupos de insetos, entre eles: XAVIER (2009) constatou o efeito tóxico e repelente do óleo essencial de *C. witerianus* sobre abelhas *Apis melífera* e contra a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (LABINAS & CROCOMO, 2002). De um modo geral os efeitos ocasionados pelos óleos essenciais resultaram na redução ou supressão dos insetos e consequentemente atuaram no número de insetos emergidos. O potencial larvicida de óleo essencial contra dípteros muscoides também foi encontrado para outro díptero da espécie *C. megacephala* resultando em 100% de mortalidade dos insetos quando foram tratados com o óleo essencial de *Piper betel* L. (Piperaceae) na concentração de 3 e 4%, seguida da concentração de 2% que matou 96,7% das larvas, e a de 1% que matou somente 10% das larvas em 4h. BOLSY (2013) observou que a emergência de adultos de *M. domestica* foi altamente afetada quando foram tratados com CL_{50} e CL_{75} de óleo essencial de *M. piperita*, ficando 45 e 27,5% respectivamente, quando comparados com os tratados com CL_{50} e CL_{75} do óleo de *L. angustifolia* ficando 57,5 and 30%, respectivamente.

Altas mortalidades também foram observadas por ABDEL HALIM & MORSY (2005) após usarem óleos voláteis de *C. macrocarpa* e *A. officinarum* contra *S. frugiperda*. KUMAR et al. (2011a), também verificaram que óleos de *M. piperita* and *E. globulus* suprimiram em 100% a emergência de moscas adultas de *M. domestica*. CABRAL et al. (2004), ao testarem topicamente neolignana Yg (100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) em dípteros pertencentes à família Calliphoridae *C. megacephala* e *C. albiceps* observaram que para *C. megacephala* a substância foi mais tóxica do que para *C. albiceps*.

Tabela 12. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	8,0	8,0	5,0	5,0	12,0	12,0
DMSO	10,0	10,0	6,0	6,0	14,0	14,0
5%	30,0	31,0	10,0	8,0	38,0	37,0
10%	24,0	26,0	21,0	19,0	37,0	40,0
25%	21,0	24,0	16,0	14,0	34,0	39,0
50%	34,0	29,0	26,0	28,0	46,0	48,0
75%	34,0	30,0	37,0	35,0	57,0	55,0
100%	61,0	62,0	28,0	26,0	76,0	79,0

Experimento (4 X).

Seguindo a mesma metodologia do presente estudo, FRANZ et al. (2011) verificaram que o óleo essencial de *C. citratus* apresentou maior toxicidade quando aplicado topicamente do que os óleos essenciais de *Mentha* sp. e de *Zingiber officinale*, apresentando uma CL₅₀ de 0,027 µL⁻² e um menor período de exposição, causando 70 e 100% de mortalidade em adultos do gorgulho do arroz *Sitophilus oryzae* L (Coleoptera:Curculionidae). Apesar do método e a espécie de dípteros serem diferentes, CAVALCANTI et al. (2004) ao testarem óleo de *Citrus limonia* Osbeck (limão-cravo) contra larva de 3º instar de *A. aegypti* obtiveram uma mortalidade de 99,54 e uma CL₅₀ de 519ppm. No entanto alguns óleos parecem não apresentar eficácia contra algumas espécies de artrópodos como é o caso de óleo de *C. citratus* que ao ser testado contra teleóginas de carrapatos não apresentou nenhum efeito (SEMMELER et al., 2011). Estes resultados demonstram que a atividade dos metabólitos secundários de plantas depende da dosagem, da espécie de artrópodo além da atividade e estrutura química da substância testada. Os dois óleos essenciais testados (Brasil e Cuba) foram capazes de originar indivíduos com má formação, sendo os mais afetados os das concentrações 5, 10 e 100% com (12,80; 15,83 e 10,42%/Brasil, respectivamente) e (12,69; 15,70 e 10,28%/Cuba, respectivamente) (Tabela 13), não havendo diferença entre os óleos (Brasil e Cuba). Foram observadas as seguintes deformidades nos adultos: tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor.

SEXENA et al. (1981) reportaram o aparecimento de deformações em larvas de *Cnaphalocrocis medianalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae) depois de serem tratadas com 50% de óleos de nim. Outros óleos essenciais foram capazes de induzir deformações em larvas, pupas, assim como nos adultos em *C. pipiens*, *L. sericata* e *M. domestica* KHATER & SHALABY (2008), KHATER & KHATER (2009a) and MANSOUR et al. (2011), respectivamente. Segundo BOLSAY (2013), essas deformações devem ser atribuídas ao efeito da inibição da metamorfose ocasionada pelo óleo essencial como resultado da alteração no controle hormonal. Nos experimentos a razão sexual não foi afetada pelo óleo essencial de *C. citratus* do Brasil/Cuba.

Tabela: 13. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae) tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades	
		Morfológicas (%)	
		<i>Chrysomya megacephala</i>	
	Controle	0,00	
	DMSO	0,00	
Brasil	5%	12,80	
	10%	15,83	
	25%	4,54	
	50%	4,81	
	75%	3,41	
	100%	10,42	
	Cuba	5%	12,69
10%		15,70	
25%		4,91	
50%		4,11	
75%		3,24	
100%		10,28	

Experimento (4X).

O óleo essencial de *C. citratus* coletado no Brasil e em Cuba alterou o período pós-embrionário (larval, pupal e de neolarva a adulto) de *Chrysomya putoria*. No período larval ele promoveu uma diminuição em todas as concentrações testadas apresentando diferença significativa quando comparado com o controle com DMSO ($3,26 \pm 0,44$ dias) e sem DMSO ($3,30 \pm 0,46$ dias) (Tabela 13). FREITAS et al. (2007) também obtiveram um prolongamento do período larval em *M. domestica*, observando que esse período diferiu estatisticamente ($P = 0,001$) entre os grupos tratados (10%) com extrato de *Melia azedarach* L (Meliaceae) e o grupo controle, apresentando média de 12,59 dias e 8,25 dias, respectivamente. Esse prolongamento também foi verificado por KUMAR et al. (2012) quando avaliou a ação inseticida de *E. globulus* (Myrtales: Myrtaceae) contra *M. domestica*. Provavelmente esse prolongamento ocorreu em uma tentativa de as larvas alcançarem o peso mínimo necessário para a pupariação.

A duração no período pupal foi ampliada nas concentrações 5, 10, 50, 75 e 100% ($4,64 \pm 0,48$; $4,49 \pm 0,50$; $4,49 \pm 0,64$; $4,85 \pm 0,35$ e $4,45 \pm 0,50$ dias, respectivamente – Brasil e $4,65 \pm 0,48$; $4,52 \pm 0,50$; $4,53 \pm 0,65$ e $4,87 \pm 0,33$ e $4,48 \pm 0,50$ dias, respectivamente - Cuba). Por outro lado, a concentração 25% encurtou o desenvolvimento pupal em $4,21 \pm 0,41$ dias para os indivíduos tratados com o óleo essencial do Brasil e $4,24 \pm 0,43$ dias para os tratados com o óleo de Cuba. Esses resultados corroboram os de BOSLY (2013), que verificaram que pupas de *M. domestica* tratadas com CL_{50} e CL_{75} de *M. piperita* e *L. angustifolia* obtiveram um prolongamento acentuado ($5,44 \pm 0,53$ dias e $5,00 \pm 0,67$ dias, respectivamente).

EL-SHAZLY et al. (1996) constataram que o extrato etanólico de folhas de *Nerium oleander* (Apocynaceae) possui ação contra a mosca *Muscina stabulans* (Fallén, 1817) (Diptera: Muscidae), atrasando a duração do período pupal e diminuindo a longevidade dos sobreviventes. Todas as concentrações dos óleos essenciais coletados no Brasil e em Cuba foram capazes de encurtar a duração do período de neolarva a adulto de *C. putoria*, diferindo estatisticamente quando comparada ao grupo controle sem DMSO ($7,55 \pm 0,76$ dias) e com DMSO ($7,51 \pm 0,61$ dias). MENDONÇA et al. (2011) obtiveram resultados inverso ao testarem uma concentração de 2 e 3% do látex de “Amapazeiro” *P. amapa* em *C. megacephala*, o período de neolarva a adulto teve um aumento de 10 dias nas duas concentrações, sendo estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle (9,4 dias). O óleo (Brasil/Cuba) não foi capaz de alterar a razão sexual, o mesmo foi observado por

MENDONÇA et al. (2011) que ao testar o látex de *P. amapa* (Apocynaceae) em larvas de *C. megacephala* não produziu alteração na razão sexual.

Tabela 13. Duração dos estágios pós-embrionário de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)
Controle	3,30 ± 0,46a	3,0 – 4,0	3,30 ± 0,46a	3,0 – 4,0	4,33 ± 0,47ad	4,0 – 5,0	4,33 ± 0,47ad	4,0 – 5,0	7,55 ± 0,76a	7,0 – 9,0	7,55 ± 0,76a	7,0 – 9,0
DMSO	3,26 ± 0,44a	3,0 – 4,0	3,26 ± 0,44a	3,0 – 4,0	4,30 ± 0,46ad	4,0 – 5,0	4,30 ± 0,46ad	4,0 – 5,0	7,51 ± 0,61ac	7,0 – 9,0	7,51 ± 0,61ac	7,0 – 9,0
5%	2,42 ± 0,50b	2,0 – 3,0	2,47 ± 0,50b	2,0 – 3,0	4,64 ± 0,48b	4,0 – 5,0	4,65 ± 0,48be	4,0 – 5,0	7,06 ± 0,23b	7,0 – 8,0	7,10 ± 0,31begh	7,0 – 8,0
10%	2,60 ± 0,49b	2,0 – 3,0	2,61 ± 0,49b	2,0 – 3,0	4,49 ± 0,50ab	4,0 – 5,0	4,52 ± 0,50b	4,0 – 5,0	7,03 ± 0,76b	6,0 – 8,0	7,08 ± 0,70bg	6,0 – 8,0
25%	2,99 ± 0,23c	2,0 – 4,0	3,02 ± 0,15c	3,0 – 4,0	4,21 ± 0,41d	4,0 – 5,0	4,24 ± 0,43df	4,0 – 5,0	7,20 ± 0,40bd	6,0 – 9,0	7,26 ± 0,44bcefgi	7,0 – 8,0
50%	2,87 ± 0,67c	2,0 – 4,0	2,88 ± 0,70c	2,0 – 4,0	4,49 ± 0,64ab	3,0 – 6,0	4,53 ± 0,65b	3,0 – 6,0	7,37 ± 0,86ade	6,0 – 9,0	7,39 ± 0,76adi	6,0 – 9,0
75%	2,54 ± 0,50b	2,0 – 3,0	2,53 ± 0,50b	2,0 – 3,0	4,85 ± 0,35ce	4,0 – 5,0	4,87 ± 0,33c	4,0 – 5,0	7,40 ± 0,62adf	6,0 – 8,0	7,40 ± 0,61adi	6,0 – 8,0
100%	2,96 ± 0,53c	2,0 – 4,0	2,97 ± 0,58c	2,0 – 4,0	4,45 ± 0,50abf	4,0 – 5,0	4,48 ± 0,50ab	4,0 – 5,0	7,37 ± 0,79adg	6,0 – 9,0	7,40 ± 0,80adhi	6,0 – 9,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (4X).

A tabela 14 mostra os resultados dos pesos dos diferentes grupos, larvas tratadas com uma concentração de 10% eram as mais pesadas ficando $53,00 \pm 15,14$ mg/óleo Brasil e $52,28 \pm 15,43$ mg/óleo Cuba e na concentração de 100% eram as mais leves ($40,40 \pm 5,65$ mg/óleo Brasil e $41,21 \pm 5,42$ mg óleo Cuba), diferindo significativamente quando comparada ao grupo controle com DMSO ($45,29 \pm 4,40$ dias). CABRAL et al. (2007a) observaram que larvas de 3º instar de *C. megacephala* tratadas com neolignanas tinham o seu peso máximo variando em 71 a 81 mg, sendo o mínimo de peso necessário para emergência entre 31 e 37 mg. CARRIÇO et al. (2014) ao testarem topicamente diferentes concentrações de extratos de folhas de *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. MOORE & STEARN, (Sapotaceae) em larvas de *C. putoria* verificaram que as três concentrações testadas (5, 10 e 25%) foram capazes de alterar o peso da pupa acima de 30%, o que permitiu que os insetos tivessem uma maior viabilidade nesse estágio. Resultados contrários foram observados por CABRAL et al. (2008) ao tratarem *M. domestica* com *M. azedarach*, que verificaram que esse extrato reduziu o peso pupal em todas as amostras. Em outro estudo, FREITAS et al. (2007) observaram que o extrato de *M. azedarach* a 10%, quando testado em *M. domestica* não foi capaz de alterar o peso pupal.

Tabela 14. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)				Razão Sexual	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
	X ± DP#	X ± DP#	IV	IV		
Controle	40,15 ± 6,74a	40,15 ± 6,74a	30,00 – 75,00	30,00 – 75,00	0,50	0,50
DMSO	45,29 ± 4,40b	45,29 ± 4,40b	30,70 – 49,90	30,70 – 49,90	0,49	0,49
5%	47,37 ± 2,36bd	48,28 ± 2,31de	42,25 – 55,50	45,25 – 55,50	0,57	0,51
10%	53,00 ± 15,14c	52,28 ± 15,43c	37,40 – 75,40	38,40 – 76,40	0,51	0,49
25%	46,10 ± 6,90bef	45,45 ± 6,28be	37,80 – 82,90	35,80 – 76,80	0,52	0,50
50%	46,13 ± 2,12beg	45,59 ± 2,13be	41,80 – 48,80	42,50 – 49,80	0,48	0,52
75%	47,62 ± 5,02beg	48,72 ± 4,89dfg	42,40 – 58,10	43,40 – 59,10	0,44	0,46
100%	40,40 ± 5,65 ^a	41,21 ± 5,42a	20,60 – 46,20	21,60 – 47,20	0,50	0,53

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (4X).

C. putoria se mostrou sensível em todo o desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal e neolarva a adulto) quando testada com o óleo essencial coletado no Brasil e de Cuba. No período larval a concentração menos letal foi a de 10%, matando 25% dos insetos no óleo do Brasil e 27% no óleo de Cuba. A concentração mais letal foi a de 100%, matando 46% dos insetos para o óleo brasileiro e 48% dos insetos para o óleo cubano, com uma menor quantidade para o grupo controle com DMSO ficou com 6% e sem DMSO com 8% mortos. No período pupal as concentrações de 25 e 50% foram as mais letais, matando 9% dos insetos na concentração de 25% de ambos os óleos e 9 e 8% na concentração de 50% para os óleos de Brasil e Cuba, respectivamente. Porém, nos grupos controles também houve mortes, ficando o grupo controle com DMSO com 11% e o grupo controle sem DMSO com 9% mortos. No período de neolarva a adulto a mortalidade ficou acima de 34% em todas as concentrações e para os grupos controle com e sem DMSO (15% e 16%, respectivamente) (Tabela 15). BOLSAY (2013) observou que a emergência de adultos de *M. domestica* foi altamente afetada quando foram tratados com CL₅₀ e CL₇₅ de óleo de *M. piperita*, ficando 45 e 27,5%, respectivamente, quando comparados com os tratados com CL₅₀ e CL₇₅ do óleo de *L. angustifolia*, ficando 57,5 and 30%, respectivamente. Altas mortalidades também foram observadas por ABDEL HALIM & MORSY (2005) após usarem óleos voláteis de *C. macrocarpa* e *A. officinarum* contra *Synthesiomyia nudiseta*.

Tabela 15. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	8,0	8,0	9,0	9,0	16,0	16,0
DMSO	6,0	6,0	11,0	11,0	15,0	15,0
5%	29,0	30,0	13,0	8,0	34,0	36,0
10%	25,0	27,0	12,0	12,0	34,0	35,0
25%	31,0	33,0	9,0	9,0	35,0	37,0
50%	32,0	34,0	9,0	8,0	39,0	41,0
75%	30,0	32,0	23,0	24,0	47,0	48,0
100%	46,0	48,0	19,0	19,0	56,0	58,0

Experimento (4X).

A aplicação do óleo essencial de *C. citratus* (Brasil/Cuba) induziu má formação e todas as concentrações, apresentando maior deformidade para os indivíduos que foram expostos as maiores concentrações 50% (74,80%), 75% (60,75%) e 100% (86,36%) para o óleo brasileiro e 50% (72,88%), 75% (62,50%) e 100% (85,88%) para o óleo cubano (Tabela 16). Os adultos apresentavam tamanho reduzido, ptilíneo não retraído, asa não inflada e alteração na cor. Vários testes com substâncias de plantas têm demonstrado serem capazes de alterar morfológicamente os insetos e SALLES & RECH (1999) constataram que *M. azedarach* possui ação inseticida sobre a mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Ephyritidae), através da redução da viabilidade larval e na viabilidade pupal, com deformações das pupas. Já SIRIWATTANARUNGSEE et al. (2008) verificaram alteração ultraestrutural na larva e no pupário de *C. megacephala* e *M. domestica* quando imersas no extrato de nim. E larvas e pupas apresentavam bolhas no tegumento. A aplicação da concentração letal de *L. camara*, *P. zonales*, *C. rotundus*, *C. macrocarpa* e *A. nilotica* em *M. domestica* induziram diferentes deformidades morfológicas em larvas, pupas e adultos. As larvas se encontravam completamente escurecidas, possuíam formas irregulares com melanização da cutícula, o desenvolvimento era interrompido entre larva e pupa, pupas secas, escurecidas e com o tegumento encolhido, muitos adultos não conseguiram emergir ficando preso no pupário, asas e abdômen deformados. Esses resultados encontrados por outros autores corroboram os resultados encontrados neste estudo, que revelam que os óleos essenciais de plantas possuem atividades inseticidas em insetos.

Com relação à razão sexual o óleo essencial de *C. citratus* do Brasil e de Cuba não foi capaz de interferir nesse parâmetro, o mesmo foi observado por CARRIÇO et al. (2014) ao testar o extrato cru das folhas de *Pouteria sapota* que cresce em Cuba em larvas de *C. putoria* também não observaram alteração na razão sexual.

Tabela16. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae) tratados com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Chrysomya putoria</i>
Controle		0,00
DMSO		0,00
Brasil	5%	30,09
	10%	32,57
	25%	46,15
	50%	74,80
	75%	60,75
	100%	86,36
Cuba	5%	35,16
	10%	32,31
	25%	48,82
	50%	72,88
	75%	62,50
	100%	85,88

Experimento (4 X).

O monoterpeno Citral apresentou atividade inseticida nas quatro espécies de moscas testadas *M. domestica*, *C. megacephala*, *C. putoria* e *L. cuprina*. Porém, a espécie que mais drasticamente afetada foi a *M. domestica*, apresentando uma redução no seu período de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal e neolarva a adulto). O período larval ($3,18 \pm 0,40$ dias) e o período de neolarva a adulto ($7,91 \pm 0,30$ dias) apresentaram diferença significativa quando comparado com os grupos controle (com DMSO ($5,29 \pm 0,47$ dias/larval), ($10,54 \pm 0,90$ dias/neolarva) e sem DMSO ($6,50 \pm 0,51$ dias/larval) ($11,85 \pm 0,36$ dias/Neolarva), respectivamente. Já o período pupal ($4,91 \pm 0,30$ dias) apresentou diferença significativa quando comparado com o grupo controle sem DMSO ($5,37 \pm 0,49$ dias) (Tabela 17). A atividade inseticida de *C. citratus* tem sido atribuída ao Citral que é o seu componente majoritário, muito usado na fumegação contra *Culex pipiens quinquefasciatus* (YANG et al., 2005). SILVA et al. (2007) ao testarem 0,25, 0,50 e 1,00% dois monoterpenos Citral e Citronelal em larva de *M. domestica* verificaram que na concentração de 0,25% de Citral houve uma redução no período larval, já no tratamento com Citronelal nas concentrações de 0,50 e 1,00% houve uma redução significativa do período larval e o período pupal apresentou valores pouco maiores. Com relação ao período de neolarva a adulto, estes observaram um aumento total ao contrário do que foi observado em nosso experimento, que reduziu esse período.

Tabela 17. Duração dos estágios pós-embrionário de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratados com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	Duração (dias)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	X ± DP#	IV (Dias)	X ± DP#	IV (Dias)	X ± DP#	IV (Dias)
Controle	6,50 ± 0,51a	6,0 – 7,0	5,37 ± 0,49a	5,0 – 6,0	11,85 ± 0,36a	11,0 – 12,0
DMSO	5,29 ± 0,47b	5,0 – 6,0	5,27 ± 0,45ab	5,0 – 6,0	10,54 ± 0,90b	10,0 – 12,0
Citral	3,18 ± 0,40c	3,0 – 4,0	4,91 ± 0,30b	4,0 – 5,0	7,91 ± 0,30c	7,0 – 8,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (3X).

No experimento, o Citral mostrou uma ação contrária, fazendo com que houvesse um aumento no peso das larvas ($25,65 \pm 5,42\text{mg}$) de terceiro estágio quando comparadas com o grupo controle com e sem DMSO ($22,22 \pm 1,30$ e $21,18 \pm 1,55\text{mg}$ respectivamente) (Tabela 18). Isso não foi observado por SILVA et al. (2007), que verificaram que o Citral e o Citronelal não apresentaram ação sobre o peso das pupas de *M. domestica* em nenhuma das concentrações (0,25, 0,50 e 1,00%). O monoterpeneo Citral não foi capaz de alterar a razão sexual.

Tabela 18. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	21,18 ± 1,55a	19,00 – 24,00	0,54
DMSO	22,22 ± 1,30a	20,80 – 24,20	0,56
Citral	25,65 ± 5,42b	16,50 – 31,70	0,49

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação) em dias. Experimento (3X).

O monoterpeneo Citral apresentou uma alta mortalidade em *M. domestica* ficando para o período larval e o período de neolarva a adulto (63%) e para o período pupal (9%) (Tabela 19). Em um método de contato através de placa de Petri KUMAR et al. (2013) testaram os monoterpeneos Citral e 1,8 – Cineole em larvas e pupas de *M. domestica* e verificaram que a toxicidade aumentava significativamente quando se aumentava a concentração do óleo (F 010.27, DF 04, P < 0,001) e que conforme se aumentava o tempo de exposição, aumentava a mortalidade das larvas. Com relação ao período pupal, o Citral e o 1,8-cineole produziram uma alta taxa de inibição (100%). Contrário aos nossos resultados o óleo essencial de *C. citratus* foi reportado como sendo ineficiente no controle de teleóginas de carrapatos (SEMMLER et al. 2011).

Tabela 19. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Musca domestica* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpene Citral.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	7,0	4,0	10,0
DMSO	10,0	4,0	13,0
Citral	63,0	9,0	90,0

Experimento (3X).

Após a emergência, os adultos de *M. domestica*, cujas larvas foram expostas ao Citral, apresentaram 100% de deformidades dentre elas: tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor (Tabela 20). OSMANI & SIGHAMONY (1980) ao aplicarem óleo de *C. citratus* em *A. aegypti* verificaram altas taxas de mortalidade e má formações nos adultos durante a emergência, além desse composto ser um excelente ovicida para a espécie for *C. quinquefasciatus* (PUSHPANATHAN et al. 2006). Já o Citral tem sido reportado como um excelente ovicida, com 96% de inibição de eclosão das larvas de *M. domestica* (RICE & COATS, 1994).

Tabela 20. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), tratados com o monoterpene Citral.

Deformidades Morfológicas (%)	
Tratamentos	<i>Musca domestica</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Citral	100,00

Experimento (3X).

Nesse estudo a espécie *L. cuprina* tratada com o monoterpeno Citral não apresentou diferença significativa no período de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal e de neolarva a adulto) mostrando uma leve redução nesses períodos quando comparados com os grupos controle com e sem DMSO (Tabela 21). Em estudos realizados por MELLO et al. (2010), testando tópicamente o látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* sobre o desenvolvimento de *Megaselia scalaris* (Phoridae), foi observado que o látex também acelerou o desenvolvimento dos estágios imaturos desses insetos. Vários produtos de plantas, como óleos metabólitos secundários e extratos têm sido testados em dípteros muscoides, como por exemplo, azadiractina, piretro, yangambina, Citral, citonelal e óleo essencial. Esses compostos mostraram possuir efeito deletério sobre esses dípteros, alterando o tempo de desenvolvimento e causando deformidades (GREEN et al., 2004; CABRAL et al., 2007B; KUMAR et al., 2013;).

Tabela 21. Duração dos estágios pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpene Citral.

Tratamentos	Duração (dias)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a adulto	
	X ± DP#	IV (Dias)	X ± DP#	IV (Dias)	X ± DP#	IV (Dias)
Controle	3,11 ± 0,32a	3,0 – 4,0	4,73 ± 0,45a	4,0 – 5,0	7,80 ± 0,40a	7,0 – 8,0
DMSO	3,15 ± 0,36a	3,0 – 4,0	4,71 ± 0,49a	4,0 – 5,0	7,76 ± 0,43a	7,0 – 8,0
Citral	3,07 ± 0,27a	3,0 – 4,0	4,45 ± 0,52a	4,0 – 5,0	7,62 ± 0,51a	7,0 – 8,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (3X).

O Citral ocasionou uma redução no peso das larvas maduras ($38,81 \pm 0,61$ mg) havendo diferença significativa dos grupos controle com DMSO ($41,96 \pm 2,59$ gr) e sem DMSO ($41,93 \pm 2,62$ mg) (Tabela 22). Estes resultados diferem dos dados obtidos por MELLO (2012) que, ao testar cornosídeo, um composto extraído *P. amapa* em larvas de um califorídeo da espécie *C. putoria* verificou que este composto não foi capaz de alterar o peso das larvas maduras (peso/com cornosídeo = 0,512g; e sem cornosídeo = 0,524g), o que também foi observado por SILVA et al. (2007) ao testarem Citral e Citronelal (nas concentrações de 0,25%; 0,50% e 1,00%) em *M. domestica*.

Tabela 22. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	41,93 ± 2,62a	38,40 – 45,00	0,42
DMSO	41,96 ± 2,59a	38,40 – 44,00	0,44
Citral	38,81 ± 0,61b	38,40 – 39,80	0,50

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (3X).

A espécie *L. cuprina* parece ser muito sensível ao monoterpeno Citral, já que observada uma alta mortalidade em todas as fases do período pós-embrionários ficando para o período larval, pupal e de neolarva a adulto as mortalidades de 53, 21 e 73%, respectivamente (Tabela 23). CARRIÇO et al. (2014) também observaram que o período larval e o período de neolarva a adulto de *C. putoria* mostrou ser o mais sensível a *P. sapota*, mostrando baixa viabilidade para as moscas tratadas com extratos de folhas de *P. sapota* a uma concentração de 5% (47,5 e 45,5, respectivamente), quando comparada com o grupo controle (79,5 e 68,5%, respectivamente), enquanto os outros tratamentos e o grupo controle mostraram viabilidades maiores que 50%. KUMAR et al. (2013) também observaram através do método de fumigação com o monoterpeno Citral que a mortalidade em larvas de *M. domestica* variou significativamente com diferentes concentrações (F08,14, df 04, $p < 0.05$) e no tempo (F034.57, df 01, $p < 0.05$). A CL_{50} foi de 69,7 e 48,6 $\mu\text{l/L}$ de ar até 24h e 48h, respectivamente. O percentual de inibição do Citral e do 1,8- cineole variou entre 88.9 – 100% e 90 – 100%, respectivamente na mesma concentração (1 – 10 $\mu\text{l/L}$). Da mesma maneira SUKONTASON et al. (2004) observaram que larvas e adultos de *M. domestica* eram muito mais suscetíveis ao eucaliptol do que a *C. megacephala*.

Tabela 23. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratados com com o monoterpeneo Citral.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	10,0	4,0	13,0
DMSO	10,0	4,0	17,0
Citral	53,0	21,0	73,0

Experimento (3X).

Além da alta mortalidade o Citral ocasionou várias deformidades nos indivíduos adultos. Deformidades foram observadas em 37,50% dos adultos, tais como tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor (Tabela 24). SUKONTASON et al. (2004) trabalhando com método de imersão de larvas de terceiro instar de *M. domestica* e *C. megacephala* em óleo essencial de eucaliptol observaram através de microscopia eletrônica de varredura que esse composto foi capaz de alterar a aparência do tegumento das duas espécies, apresentando inchaço, bolhas e deformações dos espinhos. O que foi observado por INSUD et al. (1999) ao testarem extrato de *Kaempferia galanga* demonstrando deformidades na superfície das larvas de *Culex quinquefasciatus*. Os resultados mostraram que o tratamento tópico com o monoterpene Citral pode alterar o desenvolvimento pós-embriônico em *L. cuprina*.

Tabela 24. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas (%) <i>Lucilia cuprina</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Citral	37,50

Experimento (3X).

Chrysomya megacephala ao ser exposta ao monoterpeneo Citral apresentou diminuição nos períodos larval e de neolarva a adulto ($3,12 \pm 0,35$ e $8,57 \pm 0,53$ dias, respectivamente) mostrando diferença significativa quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($3,96 \pm 0,20$ dias/larval; $8,75 \pm 0,53$ dias/neo a adulto) e sem DMSO ($3,96 \pm 0,19$ dias/larval; $9,23 \pm 0,43$ dias/neolarva a adulto). O tempo de desenvolvimento pupal ($5,57 \pm 0,53$ dias) se mostrou semelhante aos controles com DMSO ($5,20 \pm 0,41$ dias) e sem DMSO ($5,23 \pm 0,43$ dias) (Tabela 25), reduzindo o peso (Tabela 26) e produzindo uma alta mortalidade acima de 70% (Figura 27) e esta espécie se mostrou muito sensível ao Citral. Resultados diferentes foram encontrados por MELLO (2012), onde observou que o uso de cornosídeos substância extraída do *P. amapa* não foi capaz de alterar o tempo de desenvolvimento bem como o peso das larvas maduras de *C. putoria* nos diferentes tratamentos. Os nossos resultados são similares aos dados encontrados por MENDONÇA et al. (2011), onde observaram que o uso de látex puro de *P. amapa* em diferentes concentrações acelerou o tempo de desenvolvimento e reduziu a viabilidade de *C. megacephala* nas concentrações mais elevadas.

Tabela 25. Duração dos estágios pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	Duração (dias)					
	Período Larval	IV	Período Pupal	IV	Período de Neolarva a Adulto	IV
	X ± DP#	(Dias)	X ± DP#	(Dias)	X ± DP#	(Dias)
Controle	3,96 ± 0,19a	3,0 - 4,0	5,23 ± 0,43a	5,0 - 6,0	9,23 ± 0,4a	9,0 - 10,0
DMSO	3,96 ± 0,20a	3,0 - 4,0	5,20 ± 0,41a	5,0 - 6,0	9,20 ± 0,41a	9,0 - 10,0
Citral	3,12 ± 0,35b	3,0 - 4,0	5,57 ± 0,53a	5,0 - 6,0	8,57 ± 0,53b	8,0 - 9,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (3X).

Tabela 26. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o monoterpene Citral.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	Razão Sexual
		IV	
Controle	75,75 ± 4,51a	70,00 – 85,60	0,46
DMSO	75,78 ± 4,06a	70,00 – 84,00	0,55
Citral	69,49 ± 10,96b	52,00 – 73,33	0,51

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (3X).

GOMES et al. (2003) testaram o efeito do látex liofilizado de *E. splendens* var. *hislopii* sobre o desenvolvimento de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Sarcophagidae) e observaram que o período larval e o de neolarva a adulto foram os mais sensíveis, reduzindo gradualmente a viabilidade quando se aumentava a concentração do látex. Esses resultados também foram observados em nossos experimentos, o composto Citral se encontrava puro e ele afetou intensamente o desenvolvimento de *C. megacephala*, matando 73% no período larval e 77% no de neolarva a adulto. Possivelmente o Citral diminuiu a capacidade da larva de se alimentar e consequentemente em absorver os nutrientes necessários e consequentemente abandonando a dieta antes de alcançar o peso ideal para a pupação (GOMES et al., 2003). CABRAL et al (2007B) estudando a ação de lignoides de diferentes plantas, observaram que yangambina diminuiu o desenvolvimento de todos os períodos pós-embrionário de *C. megacephala*, porém outros lignoides não foram capazes de alterar esses períodos.

Os insetos adultos de *C. megacephala* (originários de larvas tratadas com o óleo do Brasil e de Cuba), que emergiram apresentaram uma alta taxa de deformidades (28,57%) (Tabela 28) quando comparados com os grupos controle com/sem DMSO (00,00), dentre as deformidades estão: tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor. HARMATHA & DINAN (2003) também observaram que as neolignanas e lignanas são capazes de interromperem o desenvolvimento de diferentes insetos como exemplo: A neolignana licarina A e machilusina que inibiram o crescimento de larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (GONZÁLES-COLOMA, 1994) e a lignana epimagnolina A que inibiu o crescimento da larva *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (MIYAZAWA et al. (1994), o que foi verificado também em testes *in vivo* de lignoides contra triatomíneos agindo diretamente no sistema neuroendócrino, e também indiretamente através de mudanças no sistema endócrino, controlando assim o crescimento e o desenvolvimento desses insetos, ou bloqueando diretamente a produção de ecdisona (CABRAL et al. 1999) e hormônio diurético (CABRAL et al. (2000). A razão sexual foi de 1:1 não havendo diferença no número de machos e de fêmeas, quando comparados com os grupos controle com e sem DMSO.

Tabela 27. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpene Citral.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	10,0	4,0	13,0
DMSO	13,0	4,0	17,0
Citral	73,0	12,0	77,0

Experimento (3X).

Tabela 28. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas (%)
	<i>Chrysomya megacephala</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Citral	28,57

Experimento (3X).

O tempo de desenvolvimento de larvas de *C. putoria* tratadas com o monoterpene Citral apresentou um aumento em todos os períodos pós-embrionários (período larval: $3,22 \pm 0,43$ dias, pupal: $5,00 \pm 0,52$ dias e de neolarva a adulto: $8,08 \pm 0,64$ dias), (Tabela 29), mostrando diferença significativa nos períodos pupal e o de neolarva a adulto quando comparados com os grupos controle com e sem DMSO. Resultados semelhantes foram observados por EL-SHAZLY et al. (1996), ao testarem o extrato etanólico de folhas de *Nerium oleander* (Apocynaceae) contra *M. stabulans*. Este extrato atrasou o período pupal e o larval além de diminuir a longevidade dos adultos. MEMORIA (2010) ao testar o extrato bruto e o liofilizado de *E. splendens* var. *hislopii* em larvas de *C. albiceps* verificou que ambos os extratos atrasavam o desenvolvimento larval dessa mosca, apresentando diferença significativa para esse período quando comparadas com o grupo controle ($F = 170,79$; $p < 0,0001$).

Tabela 29. Duração dos estágios pós-embrionário de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpene Citral.

Tratamentos	Duração (dias)					
	Período Larval	IV	Período Pupal	IV	Período de Neolarva a Adulto	IV
	X ± DP#	(Dias)	X ± DP#	(Dias)	X ± DP#	(Dias)
Controle	3,04 ± 0,19a	3,0 – 4,0	4,26 ± 0,45a	4,0 – 5,0	7,31 ± 0,47a	7,0 - 8,0
DMSO	3,17 ± 0,27a	3,0 – 4,0	4,08 ± 0,28a	4,0 – 5,0	7,16 ± 0,37 ^a	7,0 - 8,0
Citral	3,22 ± 0,43a	3,0 – 4,0	5,00 ± 0,52b	4,0 – 6,0	8,08 ± 0,64b	7,0 – 9,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (Intervalo de Variação). Experimento (3X).

O Citral aumentou o peso das larvas maduras ($59,33 \pm 2,58\text{mg}$) mostrando diferença significativa quando comparados com os grupos controle sem DMSO ($40,83 \pm 0,80\text{mg}$) e com DMSO ($45,94 \pm 2,51\text{mg}$) (Tabela 30). MEMORIA (2010) ao testar o látex de *Euphorbia splendens* var *hislopii* contra *Chrysomya albiceps* observou que as concentrações 10, 25, 50 e 75% apresentaram larvas maduras mais pesadas que as do grupo controle, apresentando diferença significativa. Com relação à mortalidade o Citral demonstrou ser um potencial inseticida contra *C. putoria* com uma mortalidade alta nos estágios larval (40%) e no período de neolarva adulto (57%) em testes tópicos (Tabela 31). Em teste com 34 tipos de óleos essenciais contra *M. domestica*, o óleo de *Pogostemon cablin* provou ser mais eficiente a uma dose letal de $3\mu\text{g}/\text{mosca}$ depois da aplicação tópica, porém em teste de fumegação o óleo mais eficiente foi o extraído de *Mentha pulegium* ($4,7\mu\text{m}/\text{cm}^2$) (PAVELA, 2008). CAVALCANTI et al. (2004) trabalhando com *A. aegypti* observaram que esse díptero era sensível a vários óleos brasileiros, obtendo uma CL50.

Tabela 30. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o monoterpeno Citral.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	40,83 ± 0,80a	39,00 – 41,60	0,54
DMSO	45,94 ± 2,51a	42,20 – 49,90	0,48
Citral	59,33 ± 2,58b	54,30 – 61,40	0,54

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (3X).

Tabela 31. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpene Citral.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	7,0	4,0	13,0
DMSO	13,0	4,0	17,0
Citral	40,0	11,0	57,0

Experimento (3X).

Além da mortalidade houve alterações morfológicas nos adultos cujas larvas foram expostas ao monoterpene Citral. A espécie *C. putoria* mostrou ser muito sensível ao esse monoterpene; os indivíduos que emergiam apresentavam muitas deformidades (Tabela 32) como tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor. OLIVEIRA et al. (2013) observaram alterações nas larvas de *A. aegypti* quando foram expostas as concentrações de 250, 500 e 1,000ppm do óleo essencial de *P. aduncum* por 24h e 48h. Várias larvas mortas apresentavam cores escuras nas suas bordas e corpo curvo, característica não analisada no experimento.

REY et al. (1990) ao testarem a toxicidade das plantas *Alnus glutinosa* L. Gaertn. (Betulaceae), *Populus nigra* L. (Salicaceae) e *Quercus robur* L. (Fagaceae) em larvas de Diptera, verificaram através da técnica de microscopia eletrônica que essas plantas possuíam um efeito histopatológico sobre as larvas além de possuir um efeito larvicida. O que foi confirmado por ABED et al. (2007), que ao testar o óleo de resina da planta *C. reticulata* observaram que além das alterações morfohistológicas das larvas esse óleo apresentava potencial larvicida. Tanto as moscas testadas quanto os grupos controle não apresentaram alteração na razão sexual ficando (1:1).

Tabela 32. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o monoterpeneo Citral.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas (%)
	<i>Chrysomya putoria</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Citral	84,61

Experimento (3X)

O resultado obtido nesse estudo demonstrou que tanto o óleo essencial de *C. citratus* quanto o seu componente majoritário, o monoterpeno Citral, apresentaram potencial atividade inseticida. Isso sugere que a combinação do Citral com os compostos minoritários do óleo essencial de *C. citratus* parece não exercer nenhuma ação sinérgica ou antagônica sobre o desenvolvimento pos-embriônico de dípteros muscóides.

6- CONCLUSÕES

Em vista das questões levantadas concluiu-se que:

Apesar dos óleos essenciais serem de países diferentes ambos atuaram de maneira semelhante no desenvolvimento pós-embrionário dos insetos testados;

As análises químicas dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* procedentes do Brasil e de Cuba permitiram a identificação de 13 e 12 constituintes químicos, respectivamente, sendo em ambos os extratos os isômeros Neral e Geranial os majoritários e o Mirceno em menor proporção só foi encontrado no óleo de Cuba.

O Mirceno, presente no óleo essencial de *C. citratus* (Cuba), parece não interferir na atividade do mesmo;

A espécie *Musca domestica* parece ser mais sensível aos efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus*;

O monoterpeno Citral afetou as espécies *Musca do méstica* e *Chrysomya megacephala*;

Aparentemente os resultados da atividade inseticida dos óleos essenciais do Brasil e de Cuba sobre os dípteros muscoides mostraram potencialidades para serem usados no desenvolvimento de produtos “eco-friendly”, que não afetam o meio ambiente;

Estes resultados sugerem que a bioatividade de *C. citratus* depende da dose e do tipo de tratamento utilizado, e da espécie do inseto da atividade ou da quantidade da substância principal ou princípio ativo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL HALIM, A. S.; MORSY, T. A. The insecticidal activity of Eucalyptus globulus oil on the development of *Musca domestica* third stage larvae. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. v.35, p. 631-636, 2005.
- ABED, R. A.; CAVASIN, G. M.; SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pela atividade larvicida do óleo-resina da planta medicinal *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae). *Rev Pat Trop*.v. 36, p. 87- 95, 2007.
- ADAMS, R. P. *Identification of Essential Oils Components by Gás Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol Stream IL, Allured Publishing Corporation, 456 p., 2001.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Interciência*, v. 27, n.7, p. 336-346, 2002.
- AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.
- ANDE, A.T. Biological activities of some plant materials against the housefly – *Musca domestica*. *Nigerian Soci. For Experimental Biol. J.*, v. 4, p. 293 – 296, 2001.
- BARNOLA, L. F., ARAGUA, C., HASEGAWA, M. Intraindividual Variations of Volatile Terpene Contents in *Pinus caribaea* Needles and its Possible Relationship to *Atta laevigata* Herbivory. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 8, p. 707-716, 1997.
- BOFF, M. I. C.; ALMEIDA, A. A. de. Efeito residual de extrato de *Piper nigrum* (L) sobre larvas neonatas de *Sitotroga cerealela* (Oliv). *Anais da Sociedade Entomologicas do Brasil*, Piracicaba -SP; v.25, n.3, p.423-429, 1996.
- BONER, J. The Isoprenoids. In: Bonner, J. &Verner, J. E. (Eds.). *Plant biochemistry*. New York, Academic Press, 1961. P. 665 -92.
- BOSLY, A. H. Evaluation of insecticidal activities of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* essential oils against house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Journal of Entomology and Nematology*, v. 5, n. 4, p. 50-54, 2013.
- BOWERS, W.S. 1976. Discovery of insect anti-llatropins, p. 394 – 408. L. I. Gilbert, E.d., *Symposium on the juvenile Hormones*. Plenum Press, USA.

- BOWERS, W. S.; OHTA, T.; CLEERE, J. S.; MARSELLA, P. A. Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. *Science* (Wash., DC), v. 193, p. 542 -547, 1976.
- BRAGA, R. *Plantas do nordeste especialmente do Ceará*. Fortaleza: UFC, 143p., 1960.
- BRITO, D. Análise de viabilidade de populações: uma ferramenta para a conservação da biodiversidade no Brasil. *Oecol Bras.* v.13, n. 3, p.452-469, 2009.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology.* v.94, p. 223–253, 2004.
- CABRAL, M. M. O.; KELECOM, A.; GARCIA, E. S. Effects of the lignan pinoselin on the moulting cycle of the bloodsucking bug. *Rhodnius prolixus*, and of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus*. *Fitoterapia.* v. 70, p. 561-567, 1999.
- CABRAL, M. M. O.; AZAMBUJA, P.; GOTTLIEB, O.; GARCIA, E. S. Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. *Fitoterapia*, v. 71, p. 1-9, 2000.
- CABRAL, M. M. O.; GOMES, C. M. S.; MENDONÇA, P. M.; BARBOSA FILHO, J. M.; GOTTLIEB, O. R.; QUEIROZ, M. M. C. Neolignans: substâncias biologicamente ativas sobre dípteros muscóides, vetores e transmissores de doenças. In XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares Instituto de Química, UFF, p.26, 1 a 3 de dezembro de 2004.
- CABRAL, M. M. O.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; QUEIROZ, M. M. C.; MELLO, R. P. Biological activity of neolignans on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala*. *Fitoterapia.* v. 78, p. 20–24, 2007a.
- CABRAL, M. M. O., MENDONÇA, P. M., GOMES, C. M. S., BARBOSA-FILHO, J. M., DIAS, C. S., SOARES, M. J., QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of yangambin on the postembryonic development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.* v.44, p. 225– 249, 2007b.
- CABRAL, M. M. O.; CRESCENTE, E. R. F.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; OLIVEIRA, V. C.; KELECOM, A. *Melia azedarach* L. extracts and their activity on *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Revista Brasileira de Farmacognosia.* v.18, 699-702, 2008.
- CAMPOS, R. N. S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SANTOS, G. R. A.; RÖNER, M.N.B. Óleos essenciais de plantas

medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. *Arch. Zootec.* v.61, p. 67-78, 2012.

CARDOSO, J.; SOARES, M. In vitro effects os Citral on *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 105, p. 1026-1032, 2010.

CARRICO, C.; PINTO, Z. T.; DUTOK, C. M. S.; CAETANO, R. L.; PESSANHA, R. R.; CHIL-NUNEZ, I.; MENDONCA, P. M.; ESCALONA-ARRANZ, J. C.; REYES-TUR, B.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 24, n.3, p. 304 – 308 2014.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. *Rev. Ciênc. Agron.* v.41, n. 2, p. 308 – 314, 2010.

CAVALCANTI, E. S. B.; De MORAIS, S. M.; ASHLEY, A. L. M.; WILLIAN, P. S. E. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* v. 99, p. 541 -544, 2004.

CHAPMAN, R. F. The insects structure and function. Cambridge University Press: New York, 1998.

CHU, S. S.; HU, J. F.; LIU, Z. L. Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais* *Pest. Manag. Sci.* v.67, p. 714-718, 2011.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTLÉ, J.; VLIENTINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, v.79, p. 213-220, 2002.

CLAYTON, W.D. *Gramineae*. In *Flora of West Africa: Tropical Africa*, vol. 3, n.2, p. 349–512, 1968.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959, 2005.

COSTA A.V., PINHEIRO P. F., RONDELLI V. M., QUEIROZ V. T. de, TULER, A. C., BRITO K. B., STINGUEL P., PRATISSOLI D. ÓLEO ESSENCIAL DE

- Cymbopogon citratus* (Poaceae) SOBRE *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) e *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biosci. J., Uberlândia*, v. 29, n. 6, p. 1840-1847, Nov./Dec. 2013.
- CORRÊA, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro, Nacional, v. 1, p. 577, 1984.
- CRUZ, G. S. Efeitos subletais de óleos essenciais associados com *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), Pernambuco, 2012. 69f. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE.
- CUNHA, A. P.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. *Fármacos aromáticos (plantas aromáticas e óleos essenciais)*. In: CUNHA, A.P. (Coord.). *Farmacognosia e fitoquímica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p.339-401, 2005.
- DELEITO, C. S. R.; MOYA-BORJA, G. E. Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. *Pesq. Vet. Bras.* v. 28, n. 6, p. 293-298, 2008.
- DÍAZ, L. H.; JORGE, M. R. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 2, p. 44-47, 2001.
- EBADOLLAHI, A.; KHOSRAVI, R.; SENDI, J. J.; HONARMAND, P.; AMINI, R. M. Toxicity and Physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Annual Review & Research in Biology*. v. 3, n. 4, p. 649 -658, 2013.
- EL FATTAH, M. A.; EL ZAHWEY, A. M.; HARIDY, I. M.; EL DEEB; MENOF. S. A. Effect of drying on the physicochemical properties and chemposition of lemongrass oil *J. Agric. Res.*, v. 17, p.1211, 1992.
- ELKATTAN, N. A. I.; AHMED, K.S.; ELBERMAWY, S. M.; ABDEL-GAWAD, R. M. Effect of some botanical materials on certain biological aspects of the house fly, *Musca domestica*. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* v. 42, p. 33 -48, 2011.
- EL-KHATEEB, R. M.; ABDEL-SHAFY, S.; ZAYED, A. A. Insecticidal effects of neem seed and vegetable oils on larval and pupal stages of sheep blowfly, *Lucilia sericata* (Diptera:Calliphoridae). *J Egypt Vet Med Assoc.* v. 63, p. 255–268, 2003.
- EKUNDAYO, O. Composition of leaf volatile oil of *Cymbopogon citratus*. *Fitoterapia* (Milano), v.56, n.6, p. 339-342, 1985.

- EL-SHAZLY, M. M.; NASSAR, M. I.; EL-SHERIEF, H. A. Toxic effect of ethanolic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera: Muscidae). *J. Egypt. Soc Parasitol.* v. 26, p. 461 – 473, 1996.
- ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action *Comparative Biochemistry and physiology*, v. 130, p. 325 – 337, 2001.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. ANVISA. 5ª Ed, Brasília. v. 1, p. 189-204, 2010.
- FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, F.; MARÍN-MORÁN, J. E.; PINTO, Z. T.; QUEIRÓZ, M. M. DE C.; ESCALONA – ARRANZ, J. C. Evaluación de las condiciones de extracción por hidrodestilación-cohobación del aceite esencial del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *Carbaea* (droga seca). *Revista Cubana de química.* v. 25, n. 1, p. 100 – 108, 2013.
- FERREIRA, L. R.; DIERSMANN, E. M.; SANTOS, V. M. R.; MOURA, C. C.; BORJA, G. E. M.; COSTA, J. B. N.; MORAIS, A. A. Verificação da atividade inseticida das folhas de *Asclepia curassavica* (Linnaeus) em *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Rev. Bras. de Agroec.* v.1, n.1, p.1709-1712, 2006.
- FISHER, R. A. *The genetical theory of natural selection*. Oxford, Clarendon Press 230 p., 1930.
- FLORÃO, A. *Avaliação das atividades biológicas de óleos essenciais de quatro espécies de Baccharis, Asteraceae*. 2006. 230f. Dissertação de Mestrado, Ciências Farmacêuticas- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- FONSECA, S. G. C. *Farmacotécnica de Fitoterápicos*. Depart de Farmácia/UFC. p.1-62, 2005.
- FRANZ, A. R.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Toxic effects of essential plant oils in adult *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera, Curculionidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 116-120, 2011.
- FREITAS, S. R. Q.; SAALFELD, G. Q.; DUARTE, J. L. P.; BEIRA, F. T. A.; RIBEIRO, P. B. Ação do fitoextrato de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre o desenvolvimento de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Pelotas, 5p. 2007.
- FURLAN, M. R.; MARTINS, R. C. C.; RODRIGUES, E.; SCALCO, N.; NEGRI, G. LAGO, J. H. G. Variação dos teores de constituintes voláteis de (*Cymbopogon citratus* (DC) Staf), Poaceae, coletados em diferentes regiões do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 5, p. 689 -691, 2010.

- FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A. DE; NETO, M. A., BEZERRA, J. N. S., SILVA, M. G. DE V. Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 5, p.843-847, 2005.
- GAD ALLAN, S. Z. The effect of some plant extracts on *Musca domestica* vicina. Pergamon Press, New York. pp 478, 1991.
- GOMES, C. M. S.; d'ALMEIDA, J. M.; SANTOS, J. A. A. Avaliação do efeito do látex de *Euphorbia splendens* va. *Hislopilii* (N.E.B.) (Euphorbiaceae), no desenvolvimento pós-embrionário de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Sarcophagidae), em condições de laboratório. *Entomol. Y Vect.* v. 10, p. 109 – 120, 2003.
- GOMES, E. C.; NEGRELLE R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos. *Visão Acadêmica*, v.4, n. 2, p. 137-144, 2003.
- GONZÁLES-COLOMA, A.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J.; LAJIDE, L. *Phytochemistry*. v. 35, p.607. 1994.
- GREEN, P. W. C.; SIMMONDS M. S. J., BLANEY W. M.; KHAMBAY B. P. S. Effects of Plant-derived Compounds on Larvae of a Blowfly Species that causes Secondary Myiasis: Laboratory Studies. *Phytotherapy Research*. v. 18, p. 538–541, 2004.
- GRODNITZKY, J.; COATS, J. R. QSAR evaluation of monoterpenoids insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 4576-80, 2002.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; BURALLI, G. M. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Rev. Bras. Ent.* v.23, p. 245-255, 1979.
- GUIMARARÃES, L. G.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da Luz da Temperatura Sobre a Oxidação do óleo Essencial de Capim-Limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. *Quim. Nova*, v 13, n.6, p.1476-1480, 2008.
- HANDIQUE, A. K.; GUPTA, R. K. Variation of oil content in lemon grass as influenced by seasonal changes and its genetics. *Indian*. v.2, p. 54-63, 1984.
- HARMATHA, J.; DINAN, L. *Phytochem Rev.* v.2, p. 321, 2003.
- HERNÁNDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Manejo Integrado Plagas*, p.14-22, 1996.

- INSUN, D.; CHOOCHOTE, W.; JITPAKDI, A., CHAITHONG, U., TIPPAWANGKOSOL, P., PITASAWAT, B. Possible site of action of *Kaempferia galanga* in killing *Culex quinquefasciatus* larvae. *Southeast Asian J. trop. Med. publ. Hlth*, v. 30, p. 195-199, 1999.
- ISLAM, M. S.; AKTAR, M. J. Larvicidal efficacies of some plant extracts and their synergistic effects with cypermethrin on the life-history traits of *Musca domestica* L. *International Journal of Innovations in Bio-Sciences*, v.3, n. 3, p. 92 – 103, 2013.
- ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* v.19, p. 603-608, 2000.
- JUNIOR, E. B.; BARRETO, C. B. J.; RIBEIRO, R. C.; OLIVEIRA, V. H. DE O.; LIMA, M. E. F.; MOYA-BORJA, G. E. Efeito de Amidas Naturais de *Piper* e do derivado Sintético Tetraidropiperina sobre *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae) e *Musca domestica* (Diptera:Muscidae) *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.16, n.2, p. 87 – 91, 2007.
- KASALI, A. A.; OYEDEJI, A. O.; ASHILOKUN, A. O. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *Flavor Fragr J*, v. 6, p.377–378, 2001.
- KHATER, H. F. *Biocontrol of some insects*. PhD thesis, Zagazig University: Benha Branch, Benha. 2003.
- KHATER, H. F.; SHALABY, A. A. Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from an Egyptian locality. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.*, v.50, n. 2, p. 107-12, 2008.
- KHATER H. F.; KHATER D. F. The insecticidal activity of four medicinal plants against the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Internat. J. Dermatol.* v.48, p. 492–497, 2009a.
- KHATER, H. F.; RAMADAN, M. Y.; EL-MADAWY, R. S. The lousicidal, ovicidal, and repellent efficacy of some essential oils against lice and flies infesting water buffaloes in Egypt. *Vet Parasitol.* v.164, p. 257–266, 2009b.
- KHATER, H. F.; HANAFY, A.; ABDEL-MAGEED, A. D.; RAMADAN, M. Y.; EL-MADAWY, R. S. Control of the myiasis-producing fly, *Lucilia sericata*, with Egyptian essential oils. *International Journal of Dermatology*, v. 50, p 187 – 194, 2011
- KHATER, H. F. Prospects of botanical pesticides in insect pest management. *J. Appl. Pharmaceut. Sci.* v.2, n. 5, p. 244-259, 2012.

KHATTER, N. A.; ABDULDAHAB, F. F. Insecticidal activity of *Calotropis procera* extracted groups on some biochemical aspects of the house fly, *Musca domestica* vicina (Diptera: Muscidae). *J. Am. Sci.* v.8, p.7, p.687-693, 2012.

KHOSRAVI, R.; JALALI-SENDI, J.; GHADAMYARI, M. Effect of *Artemisia annua* L. on deterrence and nutritional efficiency of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Plant Protection Res.* v. 50, n. 4, p. 423 – 428, 2010.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical biology and conservation*, v.5, p. 120 -132, 2010.

KNIO, K. M.; USTA, J.; DAGHER, S.; ZOURNAJIAN, H.; KREYDIYYEH. Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresource Technology*, v.99, p. 763-768, 2008.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Ind Crops Prod.*, v. 34, p. 802–817, 2011a.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 25, p. 302-310, 2011b.

KUMAR, P.; PEEYUSH, K.; MISHRA, S.; SANTOSH, S. Insecticidal evaluation of essential oils of *Citrus sinensis* L. (Myrtales: Myrtaceae) against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Parasitology Research*, Berlin, v. 110, n. 5, p. 1929 – 1936, 2012.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A. SATYA, S. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (Citral and 1,8-cineole). *Parasitol research*, v.112, p. 69-76, 2013.

KUWAHARA, Y.; SUZUKI, H.; MATSUMOTO, K.; WADA, Y. 1983. Pheromone study on acarid mites. XI. Function of mite body as geometrical isomerization and reduction of Citral (the alarm pheromone) *Carpoglyphus lactis*. *Appl. Entomol. Zool.* v. 18, p. 30-39, 1983.

LABINAS, A.M.; CROCOMO, W.B. Effect of java grass (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). *Acta Scientiarum*, v.24, n.5, p.1401-05, 2002.

- LANKAS, G. R.; MINSKER, D. H.; ROBERTSON, R. T. Effects of ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, v.19; n. 27, p. 523–529, 1989.
- LEAL, W. S.; UCHIDA, K. Application of GC-EAD to the determination of mosquito repellents derived from a plant, *Cymbopogon citratus*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. v. 1, p. 217–221, 1998.
- LEE, S. E.; LEE, B. H.; CHOI, W. S.; PARK, B. S.; KIM, J. G.; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science*, v.57, 548–553, 2001.
- LEVOT, G. W.; BROWN, K. R.; SHIPP, E. Larval growth of some Calliphorid and Sarcophagid (DIPTERA). *Bulleting of Entomomological Reserearch*, Asia, n. 69, p. 469-475, 1979.
- LEWINSOHN, E.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; KATZIR, I.; RAVID, U.; PUTIEVSKY, E.; JOEL, D. M.. Histochemical localization of Citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). *Annals of Botany* v.81, p. 35-39, 1998.
- LIMA, M. E. L.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; SOBRA, M. E. G.; MORENO, M. E. L. Antimicrobial activity of essential oil from two specimens of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae) Native from São Paulo state – Brazil. *IParmacologyonline* v. 3, p. 589 – 593, 2006.
- LUCENA, Y.B.; LEITE, A.C.A.S.; OLIVEIRA, K.A. JUNIOR, F.G.; RODRIGUES, O.G.; NETO, V.Q. Avaliação da atividade do óleo essencial do capim santo (*Cymbopogon citratus* DC, Stapf) em bactérias cariogênicas. *Biofar, Rev. Biol. Farm.* Campina Grande/PB, v. 9, n. 2, p. 114-129, 2013.
- MANSOUR, S. A.; BAKR, R. F. A.; MOHAME, D. R. I.; HASANEEN, N. M. Larvicidal Activity of Some Botanical Extracts, Commercial Insecticides and their Binary Mixtures Against the Housefly, *Musca Domestica* L. *Open Toxinol. J.* v.4, p. 1 – 13, 2011.
- MARTINS, R. M. Estudo “*in vitro*” da ação acaricida do óleo essencial da gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplis*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinaiis, Botucatu*, v. 8, n. 2, p. 71-78, 2006.

MEDEIROS, M. F. T.; FONSECA, V. S.; ANDREATA, R. H. P. Plantas medicinais e seus usos pelos sítios da reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, n. 2, p. 391-399, 2004.

MELLO, R. S.; FERREIRA, A. R. S.; QUEIROZ, M. M. C. Bioactivity of latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopiae* (Euphorbiaceae) on post-embryonic development of *Megaselia scalaris* (Phoridae). *Veterinary Parasitology* v. 172, p. 100 – 104, 2010.

CAPÍTULO II:

AVALIAR A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *PINUS CARIBAEA* PROCEDENTES DO BRASIL E DE CUBA E O TERPENO CARIOFILENO, SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS DÍPTEROS MUSCOIDES.

1.RESUMO

Este trabalho objetivou analisar a composição química e o efeito inseticida do óleo essencial extraído das folhas de *Pinus caribaea* Morelet procedentes do Brasil e de Cuba e o terpeno Cariofileno sobre o desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoide *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* e *Lucilia cuprina*. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação utilizando aparelhagem do tipo “Clevenger”, e suas composições químicas identificadas após análise por cromatografia em fase gasosa de Alta Resolução (CG/AR) acoplada à espectrometria de massas (EM). Para o óleo essencial obtido das folhas de *P. caribaea* coletadas no Brasil foram identificadas 12 substâncias químicas, sendo o β -Felandreno (39,57%), Germacreno D (26,57%) e (E) Cariofileno (16,85%) os majoritários. A análise do óleo das folhas de *P. caribaea* provenientes de Cuba resultou na identificação de 20 substâncias, sendo o Germacreno D (48,25%), Óxido de Cariofileno (12,41%) e β Felandreno (12,10%) Germacreno D (48,25%) os constituintes majoritários.

O Cariofileno mostrou ser mais tóxico para *M. domestica* com uma mortalidade de 87% na fase de neolarva a adulto e as espécies menos afetadas foram *L. cuprina* e *C. megacephala* com 83% de mortalidade e para *C. putoria* a mortalidade observada foi de 63%. O período pós- embrionário foi encurtado nas espécies *M. domestica*, *L. cuprina* e *C. megacephala* e aumentado em *C. putoria*. O peso pupal foi reduzido na maioria das espécies com exceção de *C. putoria* que teve ele aumentado e não houve alteração na proporção sexual nas espécies estudadas.

2. ABSTRACT

This study aimed to analyze the chemical composition and insecticidal effect of the essential oils extracted from leaves of *Pinus caribaea* Morelet collected in Brazil and Cuba and the terpene Caryophyllene, on the post- embryonic development of the species *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* e *Lucilia cuprina*. The essential oils were extracted using a “Clevenger” type equipment, and their chemical composition was analyzed by high resolution gas chromatography (HRGC) coupled to mass spectrometry (MS). Twelve components were identified in the essential oil of *P. caribaea* collected in Brazil, and β Phellandrene and Germacren D and (E) Caryophyllene were the major components, with relative areas of 39.57, 26.57 and

16.85% respectively. In comparison, 20 components were identified from the essential oil of the same species originated from Cuba with the major components, Germacrene D (48.25%), o β -Phellandrene (12.10%) and Caryophyllene Oxide (12.41%).

Caryophyllene was more toxic to *M. domestica* with an 87% of mortality for the newly-hatched larvae to adult and the less affected species were *L. cuprina* and *C. megacephala* with 83% of mortality and for *C. putoria* the mortality was 63%. The post-embryonic development period was shortened in the species *M. domestica*, *L. cuprina* and *C. megacephala* and prolonged in *C. putoria*. The pupal weight was reduced in most species except in *C. putoria* that it had increased, there was no change in the sex ratio in the species in the study.

3. INTRODUÇÃO

Pinus caribaea Morelet, pertence à família Pinaceae, compreende 250 espécies, conhecida popularmente por pinheiro do caribe, pinho amarelo e pinho macho, é nativa de Pinar del Río e Ilha da Juventude e algumas áreas do Caribe (SÁNCHEZ et al., 2012). É o único pinheiro tropical que cresce naturalmente em baixas altitudes; possui as seguintes características: é uma árvore majestosa, alta, de alto crescimento, sua madeira é resinosa, sendo ótima para produção de papéis (FRANCIS, 1992). Esta espécie é usada em Cuba com fins medicinais e aparece listada no Formulário Nacional de Fitofármacos e Apifármacos; seus óleos essenciais possuem várias propriedades terapêuticas, aromáticas e medicinais (FUENTES et al., 2006; KOZAN et al., 2006). Os extratos fluídos obtidos das suas folhas possuem atividades biológicas como: antifúngicas, bactericidas e para problemas respiratórios (LÓPEZ et al., 1997; SONIBARE & OLAKUNLE, 2008). A composição química de *Pinus* tem sido muito estudada em várias partes do mundo (MACCHIONI et al., 2003; STEVANOIC et al., 2004; DOB et al., 2005). BARTOLA & CEDEÑO (2000) ao compararem a natureza química dos óleos essenciais obtidos das folhas de *P. caribaea* de duas zonas geográficas da Venezuela observaram que havia diferença entre a composição química, para uma população o principal componente era β -felandreno para a outra população era o Germacrene-D. O que foi verificado por SONIBARE & OLAKUNLE (2008), ao investigarem a composição química das folhas de *P. caribaea* coletadas na Nigéria, observaram que os componentes principais eram β -felandreno

(67,9%), β -cariofileno (10,2%) e pineno (5,4%) dentro de um total de 28 compostos identificados, com um predomínio muito marcado de compostos monoterpênicos.

Segundo MARTINS et al., 1995; CIMANGA et al., 2002, a diferença dos rendimentos de alguns óleos de plantas aromáticas entre regiões do mundo se deve a fatores como: clima, da natureza, do sol, a idade da árvore, a hora da coleta, o modo de extração. Esses fatores refletem na biossíntese de diferentes compostos, podendo atuarem sozinhos ou interagirem entre si, interferindo na composição dos óleos essenciais.

A composição química de *P. carbaea* é dominada por hidrocarbonetos monoterpênicos (77,4%). Os hidrocarbonetos sesquiterpênicos e compostos oxigenados constituem 15,0 e 1,4%, respectivamente. Os maiores constituintes do hidrocarboneto monoterpênicos são felandreno (67,9%), hidrocarboneto pineno (5,4%) e felandreno (2,3%). Dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos a maioria era cariofileno (10,2%) e D-germacreno (2,4%), felandreno representa a maior percentagem do óleo e é um importante constituinte na fragrância de aroma agradável (SONIBARE & OLAKUNLE, 2008).

Na literatura consultada não foram observados estudos da composição química e da ação inseticida dos óleos essenciais das folhas *P. caribaea* coletados no Brasil e em Cuba sobre o desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides. A partir dessa premissa, esse estudo objetivou caracterizar quimicamente e avaliar a atividade dos óleos essenciais da espécie *P. caribaea* coletados no Brasil e em Cuba sobre o desenvolvimento pós-embrionário dos de *M. domestica*, *C. megacephala*, *C. putoria* e *L. cuprina*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do óleo essencial de *P. cariabea* coletado no Brasil resultou na identificação de 12 substâncias químicas, sendo o β -Felandreno (39,57%), Germacreno D(26,57%) e o (E) Cariofileno (16,85%) os majoritárias. Para o óleo de *P. cariabea* provenientes de Cuba foram identificadas 20 substâncias sendo o Germacreno D (48,25%), Óxido de Cariofileno (12,41%) e β -Felandreno (12,10) Germacreno D (48,25%) os constituintes majoritários (Tabela 26). Esses resultados corroboram com os

de BARTOLA & CEDEÑO (2000) que também encontraram como compostos majoritários nas duas populações de *Pinus* na Venezuela os componentes β -felandreno e Germanocreno-D. Vários autores têm relatado a composição química dos óleos essenciais de várias espécies de *Pinus* de diferentes partes do mundo (MACCHIONI et al., 2003; STEVANOIC et al., 2004; DOB et al., 2005). Esses dois compostos também foram encontrados em nossos experimentos como componente majoritário no óleo essencial do *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba.

Outro estudo que analisa e compara a composição química dos óleos de três partes da planta (folhas, galhos e cones-fêmeas), de quatro espécies de *Pinus* (*P. pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* e *P. nigra*), os autores obtiveram os seguintes resultados; a espécie *P. pinea* foi o que apresentou a maior quantidade do composto limonene (58,9 - 62,5%), na espécie *P. halepensis* α -pinene (18,1% - 53,6%) e Mirceno (13,7 - 42,1%), para *P. pinaster* α -pinene (24,7 - 40,4%) e β -pineno (21,7 - 29,2%), e em *P. nigra* α -pinene (28,4 - 61,7%) (MACCHIONI et al., 2003), que diferiram dos compostos majoritários encontrados em nossos experimentos. SONIBARE et al. (2008), ao investigarem a composição química do óleo das folhas de *Pinus* que cresce na Nigéria, obtiveram como compostos principais β - felandreno (67,9%), β - cariofileno (10,2%) e α - pineno (5,4%), com um total de 29 compostos, predominando os compostos monoterpênicos. O que foi verificado também por outros autores ao estudarem os óleos essenciais de outras espécies de *Pinus* (EKUDAYO, 1978; EKUDAYO, 1988, MACHIONE et al., 2003; STEVANOIC et al., 2004).

Em Cuba existem poucos estudos sobre a composição química do *Pinus* que é uma planta endêmica do país, nas folhas se tem extraído óleos essenciais ricos em terpenos, além de carotenoides (β - Carotenos) (QUERT et al., 1997; FERNÁNDEZ-SANCHEZ, 2013).

CHOWDHURY et al. (2008) estudando amostras desse gênero que vieram de Bangladesh, verificaram que o óleo de diferentes partes da planta (folhas secas, frescas, inflorescências e resinas), resultaram em 20 compostos químicos diferentes para cada órgão estudado, demonstrando assim que a composição química de uma mesma planta pode variar de acordo com os diferentes órgãos estudados. Como resultado da análise foi observado que os óleos essenciais das folhas secas e frescas eram abundantes em limoneno, em óxido de cariofileno, e que entre o estado seco e fresco, o seco foi o que apresentou mais variedade em compostos identificados. O óleo de *Pinus longifolia*

(Pinaceae) é muito usado contra picada de mosquito, em particular *Anopheles culifacies* Giles (Culicidae), sendo também amplamente utilizado como fitoterápico em algumas áreas na Índia (ANSARI et al., 2005). Segundo ANSARI et al. (2005), o óleo de *Pinus* possui a mesma ação repelente que o óleo essencial de *Citronela*, sendo usado como repelente em algumas preparações comerciais.

Os constituintes majoritários apresentavam valores similares, porém o óleo de origem cubana apresentou mais constituintes químicos que o do Brasil, apesar de possuir menos constituintes químicos o óleo essencial brasileiro apresentou um total de 99,54% de compostos enquanto que o óleo cubano apresentou 94,81% (Tabela 26).

Tabela 33. Composição química (%) do óleo da espécie de *Pinus caribaea* Morelet coletado no Brasil and Cuba.

Compostos	Abundância relativa (%)		Índice de Retenção Kovats	ID
	Brasil	Cuba		
α – Pineno	5,26	2,73	931	MS, RI
Canfeno	-	0,11	954	MS, RI
β – Pineno	0,87	7,33	982	MS, RI
Mirceno	1,01	0,33	988	MS, RI
α – Felandreno	1,13	0,21	997	MS, RI
p-Cimeno	-	0,13	1021	MS, RI
β – Felandreno	39,57	12,10	1032	MS, RI
Acetato de Bornila	-	2,05	1293	MS, RI
δ – Elemeno	-	0,50	1344	MS, RI
α – Copaeno	-	0,24	1372	MS, RI
β – Bourboneno	-	0,11	1384	MS, RI
β – Cubebeno	-	0,26	1392	MS, RI
(E)- Cariofileno	16,85	1,56	1428	MS, RI
α – Humuleno	2,81	0,54	1472	MS, RI
α – amorfeno	1,48	0,29	1479	MS, RI
Germacreno D	26,57	48,25	1489	MS, RI
α – Muuroleno	0,59	1,49	1498	MS, RI
γ – Cadineno	0,82	1,01	1516	MS, RI
δ – Cadineno	2,58	3,16	1538	MS, RI
Óxido de cariofileno	-	12,41	1581	MS, RI
Total identificado	99,54	94,81		

ID = Método de Identificação; MS= comparação do espectro de massa com as das bibliotecas de massa do computador, e Adams (2007); IR = comparação do cálculo do Índice de Retenção com os reportados na literatura.

Analisando os dados obtidos quanto à duração do período pós - embrionário (larval, pupal e de neolarva a adulto) de *Musca domestica* tratadas com óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba foi observado que nos grupos tratados houve um atraso no tempo de desenvolvimento com diferença significativa quando comparado com os grupos controle com e sem DMSO (Tabela 34), porém os óleos agiram similarmente sobre o desenvolvimento de *M. domestica*. Esses dados corroboram aos de SILVA (2009), que também observou uma redução dos períodos pré-embrionários nos grupos tratados com *P. amapa* em relação ao grupo controle. Enquanto SAMPAIO (2012) evidenciou um aumento ($3,7 \pm 1,1$ dias) no período larval *C. putoria* tratada com 5% de extrato aquoso de *Mentha crispa* L. (Lamiaceae) mostrando diferença significativa quando comparada com o grupo controle ($3,1 \pm 0,7$ dias). Entretanto, LOPES (2010) não evidenciou nenhum efeito dos compostos do extrato de *P. scandens* sobre o desenvolvimento de *C. putoria*. No período pupal SAMPAIO (2012) observou uma diminuição do período nos grupos tratados, observando a maior diferença estatística no grupo testado com 10%. Contrariamente SILVA (2009) observou um prolongamento no período pupal de *C. putoria* ao ser tratada com o látex de *P. amapa* na concentração de 2%. Em contra partida, BAPTISTA (2009) não observou no período pupal nenhuma diferença significativa ao tratar *C. albiceps* com extrato de *M. crispa*.

Tabela 34. Duração dos estágios pós-embrionário, de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet, coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)
Controle	6,68 ± 0,47a	6,0 – 7,0	6,68 ± 0,47a	6,0 – 7,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	11,91 ± 0,29a	11,0 – 12,0	11,91 ± 0,29a	11,0 – 12,0
DMSO	5,31 ± 0,58b	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58b	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58a	4,0 – 7,0	5,31 ± 0,58a	4,0 – 7,0	10,63 ± 1,16b	8,0 – 14,0	10,63 ± 1,16b	8,0 – 14,0
5%	7,72 ± 0,45c	7,0 – 8,0	7,75 ± 0,43cd	7,0 – 8,0	6,05 ± 0,23b	6,0 – 7,0	6,06 ± 0,26b	6,0 – 7,0	13,67 ± 0,53c	13,0 – 15,0	13,82 ± 0,54c	13,0 – 15,0
10%	7,79 ± 0,41ce	7,0 – 8,0	7,82 ± 0,39cd	7,0 – 8,0	6,07 ± 0,25b	6,0 – 7,0	6,08 ± 0,27b	6,0 – 7,0	13,86 ± 0,51c	13,0 – 15,0	13,89 ± 0,50c	13,0 – 15,0
25%	7,74 ± 0,44ce	7,0 – 8,0	7,86 ± 0,35cd	7,0 – 8,0	7,03 ± 0,30c	6,0 – 8,0	7,00 ± 0,37c	6,0 – 8,0	14,77 ± 0,55d	14,0 – 16,0	14,86 ± 0,51d	14,0 – 16,0
50%	7,96 ± 0,73de	7,0 – 9,0	8,34 ± 0,63f	7,0 – 9,0	7,02 ± 0,40c	6,0 – 8,0	7,07 ± 0,44c	6,0 – 8,0	14,98 ± 0,74d	13,0 – 16,0	15,40 ± 0,92e	13,0 – 17,0
75%	8,31 ± 0,61f	7,0 – 9,0	8,55 ± 0,60f	7,0 – 9,0	7,29 ± 0,46d	7,0 – 8,0	7,34 ± 0,48d	7,0 – 8,0	15,60 ± 0,49e	15,0 – 16,0	15,89 ± 0,80e	14,0 – 17,0
100%	10,74 ± 0,78g	10,0 – 12,0	10,82 ± 0,85g	10,0 – 12,0	7,50 ± 0,50d	7,0 – 8,0	7,35 ± 0,48d	7,0 – 8,0	18,24 ± 0,92f	17,0 – 20,0	18,17 ± 1,28f	17,0 – 20,0

Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (4X).

Ao analisar o peso larval (Tabela 35) foi observado que todas as concentrações tiveram o seu peso reduzido, com exceção da concentração de 50% que teve o seu peso aumentado ($25,97 \pm 2,19\text{mg}/\text{óleo}/\text{Brasil}$ e $25,91 \pm 2,45\text{mg}/\text{óleo}/\text{Cuba}$) com diferença significativa quando comparada com os grupos controle sem DMSO ($21,50 \pm 1,76\text{mg}$) e com DMSO ($21,59 \pm 1,39\text{mg}$). Os grupos tratados apresentaram diferença significativa no peso quando comparados com os grupos controle. Os dados corroboram o experimento de MELLO (2012) que testando tópicamente o composto cornosídeo uma substância extraída do látex do *P. amapa*, observou que o peso das larvas maduras de *C. putoria* não variou entre os tratamentos (com cornosídeo: peso= 0,512 g; e sem cornosídeo: peso = 0,524 g) ($t = 0,901$; $gl = 58$; $p = 0,371$). CABRAL et al. (2007) ao estudarem yangambina (substância extraída da planta *Ocotea duckei* Vattimo) sobre *C. megacephala* verificaram que o grupo controle apresentou menor peso larval em comparação aos grupos tratados. MUKANDIWA et al. (2012) observaram que com o aumento da concentração de acetona nos extratos das plantas resultavam em uma diminuição da ingestão da carne pela larva, no peso da pupa e na taxa de emergência dos adultos.

LIMA et al. (2009) estudando lagartas *S. frugiperda* tratadas com óleo de pimenta longa, através do contato tópico e por ingestão, verificaram uma diminuição na atividade alimentar, e alta mortalidade. As larvas que se encontravam vivas se tornaram agitadas e hiperativas. Os autores sugeriram que esse óleo produzia uma atividade neurotóxica.

Não houve diferença significativa entre as razões sexuais do grupo controle e dos grupos tratados, sendo todas consideradas 1:1 (Tabela. 35). Essa razão aponta uma estabilidade dentro da colônia. Esses dados corroboram com CARRIÇO et al. (2014) que ao testarem extrato cru das folhas de *P. sapota* em larvas de *C. putoria* não obtiveram nenhuma alteração na razão sexual dos insetos tratados. MENDONÇA et al. (2011) ao testar o látex de *P. amapa* sobre o desenvolvimento de *C. megacephala* também não observaram alteração na razão sexual dos indivíduos tratados quando comparados com o grupo controle.

Tabela 35. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)		IV		Razão Sexual	
	Brasil X ± DP#	Cuba X ± DP#	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	21,50 ± 1,76a	21,50 ± 1,76a	19,00 – 24,40	19,00 – 24,40	0,50	0,50
DMSO	21,59 ± 1,39a	21,59 ± 1,39a	15,00 – 24,20	15,00 – 24,20	0,51	0,51
5%	18,89 ± 1,09b	18,97 ± 1,16bg	17,00 – 20,80	16,50 – 20,80	0,52	0,51
10%	16,95 ± 1,21c	16,79 ± 1,50c	14,30 – 20,50	14,30 – 20,60	0,53	0,55
25%	19,65 ± 0,86dg	19,31 ± 0,98bg	18,40 – 21,80	17,80 – 20,80	0,51	0,51
50%	25,97 ± 2,19e	25,91 ± 2,45e	23,90 – 32,00	23,50 – 32,00	0,54	0,52
75%	20,50 ± 2,65f	20,43 ± 2,71f	16,40 – 24,30	16,00 – 24,60	0,52	0,51
100%	20,10 ± 0,84df	20,30 ± 1,03df	17,50 – 21,40	17,81 – 21,30	0,53	0,52

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (4X).

A mortalidade no período larval e de neolarva a adulto se apresentou dose dependente (Tabela 36), foi observado que conforme a concentração do óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba era aumentada a mortalidade de *M. domestica* também aumentava. No período de neolarva a adulto a mortalidade foi acima de 60% em todas as concentrações em ambos os óleos essenciais (Brasil e Cuba), ficando as maiores mortalidades para as concentrações de 100% do óleo. Estes dados corroboram aos obtidos por BATISTA (2009) que observou que o extrato em concentração alta ocasionou maior mortalidade em *C. albiceps*, discordando dos resultados obtidos por SAMPAIO (2012) que observaram que quanto menor a concentração do extrato maior é a mortalidade. O aumento da concentração do óleo resultou em mais deformações dos adultos (Tabela 37), as deformações se apresentavam da seguinte maneira: tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor. Esses dados corroboram aos de KHATER & SHALABY (2008) que ao testarem várias plantas medicinais contra *L. sericata* verificaram várias anomalias nas larvas, pupas e nos adultos. Os adultos eram albinos, com formato elefanteoide, abdômen e pernas deformadas, além do que uma maioria se encontrava preso ao pupário. Em outro estudo MELLO et al. (2007), observaram que o óleo essencial de *Pilocarpus spicatus* (Rutaceae) ao ser aplicado em ninfas de 5º estágio de *Rhodnius prolixus*, produziam paralisia, associada à inibição da muda, fagoinibição parcial, período de intermuda prolongado e vários insetos com paralisia. Já o óleo de *L. angustifolia* apresentou efeitos carrapaticidas contra fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus annulatus* (PIRALI – KHEIRABADI & SILVA (2009). Possivelmente as deformidades foram geradas devido ao óleo da planta agir inibindo a metamorfose, alterando o controle hormonal, sugerindo um tipo de regulação da atividade de crescimento KHATER & KHATER (2009). Estas deformidades geradas pelo óleo essencial de *C. citratus* é favorável ao controle desses, diminuindo a população dos dípteros muscóides.

Tabela 36. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	12,0	12,0	2,0	2,0	12,0	12,0
DMSO	13,0	13,0	2,0	2,0	14,0	14,0
5%	37,0	38,0	5,0	4,0	66,0	66,0
10%	37	39,0	6,0	5,0	66,0	67,0
25%	43,0	44,0	4,0	7,0	68,0	68,0
50%	47,0	59,0	7,0	8,0	76,0	78,0
75%	58,0	61,0	5,0	12,0	81,0	81,0
100%	69,0	71,0	8,0	9,0	92,0	93,0

Experimento (4X).

Tabela 37. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Pinus caribaea</i>
Controle		0,00
DMSO		0,00
Brasil	5%	39,13
	10%	54,41
	25%	76,92
	50%	83,33
	75%	89,47
	100%	100,00
Cuba	5%	41,18
	10%	56,21
	25%	79,25
	50%	84,44
	75%	92,31
	100%	100,00

Experimento (4X).

Ao comparar os valores do peso das larvas maduras de *L. cuprina*, dos diferentes tratamentos usando o óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba com o grupo controle, observou-se que houve um aumento de peso em todas as larvas tratadas. A concentração de 75 e 100% apresentaram o maior peso $52,75 \pm 1,02\text{mg}/\text{óleo-Brasil}$ e $53,88 \pm 1,86\text{mg}/\text{óleo-Cuba}$, respectivamente. Essas concentrações diferiram significativamente dos grupos controle sem DMSO ($33,19 \pm 3,41\text{mg}$) e com DMSO ($32,45 \pm 2,47\text{mg}$) (Tabela 38). Por outro lado CABRAL et al. (2008) estudando a atividade de extratos de *M. azedarach* observaram que as pupas após o tratamento apresentavam o peso reduzido. CARRIÇO et al. (2014) ao testarem a concentração de 5% do extrato de folhas de *P. sapota* sobre larvas de *C. putoria* também observaram redução no peso (45,8mg) quando comparada ao grupo controle (46,5mg). Possivelmente esse aumento no peso é devido a facilidade de penetração dos óleos essenciais que podem penetrar nos tecidos cerca de 100 vezes mais rapidamente que a água.

Segundo SARFRAZ et al. (2006) e HOPKINS et al. (2009) existem substâncias secundárias que participam também como estimulantes da alimentação e na seleção da planta hospedeira pelo inseto. Porém não se sabe como essa substância funciona no organismo do inseto. Só terão condições de se desenvolver até a fase de adultos quando atingirem o seu peso mínimo característico para cada espécie (LEVOT et al., 1979; REIS et al., 1994). Segundo VON ZUBEN (1998), ao estudar populações de um Calliphoridae da espécie *C. megacephala*, determinou que o peso larval mínimo necessário para permitir a formação de pupas viáveis variava entre 30,5 e 32mg, apesar do estudo tratar de uma espécie diferente, porém da mesma família Calliphoridae o menor peso das larvas maduras tratadas de *L. cuprina* apresentava-se dentro da faixa de peso necessário para a pupação. A razão sexual não apresentou diferença com relação ao esperado, indicando que há estabilidade dentro da população (ESSER, 1991; GABRE et al., 2005). No entanto, no estudo de CABRAL et al. (2007) com *C. megacephala* observaram diferenças com relação a razão sexual, tanto do grupo controle quanto no grupo tratado com as neolignanas testadas, o que variou entre 0,37 e 0,75.

Tabela 38. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)					
	Brasil		Cuba		Razão Sexual	
	X ± DP#	X ± DP#	IV	IV	Brasil	Cuba
Controle	33,19 ± 3,41a	33,19 ± 3,41a	26,87 – 37,37	26,87 – 37,37	0,52	0,52
DMSO	32,45 ± 2,47a	32,45 ± 2,47a	28,20 – 36,83	28,20 – 36,83	0,52	0,52
5%	39,75 ± 5,55b	40,07 ± 4,69b	30,00 – 48,40	34,00 – 48,60	0,51	0,49
10%	42,21 ± 3,27c	45,54 ± 4,96cgh	35,20 – 48,20	32,20 – 49,80	0,53	0,48
25%	44,87 ± 2,54cdh	46,92 ± 3,73eg	39,00 – 51,00	36,30 – 50,60	0,49	0,53
50%	46,59 ± 3,32de	47,83 ± 2,56e	41,40 – 54,20	35,80 – 50,00	0,52	0,52
75%	52,23 ± 1,30f	53,16 ± 1,91f	50,40 – 54,00	51,70 – 58,00	0,52	0,48
100%	51,75 ± 1,02f	53,88 ± 1,86f	50,00 – 53,40	50,60 – 58,00	0,51	0,49

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (4X).

Com relação à duração do período larval de *L. cuprina* tratada com óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba, o óleo atuou reduzindo o período larval de todas as larvas tratadas. Larvas dos grupos controle sem/com DMSO apresentaram duração de $3,24 \pm 0,43$ e $3,17 \pm 0,38$ dias, respectivamente, diferindo significativamente das larvas tratadas nas concentrações de 10 ($2,97 \pm 0,37$), 50 ($2,72 \pm 0,50$), 75 ($2,52 \pm 0,51$) e 100% ($2,42 \pm 0,50$ dias/óleo/Brasil) e 5 ($2,99 \pm 0,25$), 10 ($2,94 \pm 0,29$), 25 ($2,93 \pm 0,31$), 50 ($2,60 \pm 0,50$), 75 ($2,36 \pm 0,49$) e 100% ($2,28 \pm 0,46$ dias/óleo/Cuba) (Tabela 39). O menor período das moscas tratadas foi na concentração de 100% ($2,42 \pm 0,50$ dias/óleo/Brasil e $2,28 \pm 0,46$ dias/óleo/Cuba) e o maior período para a concentração de 5% ($3,00 \pm 0,35$ dias/óleo/Brasil e $2,99 \pm 0,25$ dias/óleo/Cuba).

O período pupal demonstrou diferença significativa quando comparados com os grupos controle com/sem DMSO. Todas as concentrações reduziram a duração deste período. A concentração 10% apresentou um maior período ($3,99 \pm 0,61$ dias) no grupo tratado com o óleo do Brasil e a de 5% ($3,83 \pm 0,48$ dias) no grupo tratado pelo óleo Cubano. BAPTISTA (2009) ao testar o efeito de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* nas concentrações 10, 25, 40, 50 e 100% contra *C. megacephala* observou um aumento no período pupal sem diferença significativa entre as concentrações.

A duração do período de neolarva a adulto foi menor na concentração 100% ($5,12 \pm 0,33$ dias/óleo/Brasil e $5,08 \pm 0,47$ dias/óleo/Cuba) e maior na de 5 e 10% ($6,73 \pm 0,54$ dias/óleo/Cuba e $6,82 \pm 0,72$ dias/óleo/Brasil, respectivamente) com diferença significativa quando comparada com os grupos controle sem DMSO ($7,96 \pm 0,67$ dias) e com DMSO ($7,81 \pm 0,51$ dias). MENDONÇA et al. (2008) testando o efeito do látex de *P. amapa* (Apocynaceae) a 1, 2 e 3% sobre o desenvolvimento de *C. megacephala*, observaram que as concentrações de 2 e 3% se mostraram significativas e prolongaram a fase de neolarva a adulto.

Tabela 39. Duração dos estágios pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)
Controle	3,24±0,43a	3,0 – 4,0	3,24±0,43a	3,0 – 4,0	4,72±0,58a	4,0 – 6,0	4,72±0,58a	4,0 – 6,0	7,96±0,67a	7,0 – 10,0	7,96±0,67a	7,0 – 10,0
DMSO	3,17±0,38ac	3,0 – 4,0	3,17±0,38ac	3,0 – 4,0	4,67±0,60a	4,0 – 6,0	4,67±0,60a	4,0 – 6,0	7,81±0,51a	7,0 – 10,0	7,81±0,51a	7,0 – 10,0
5%	3,00±0,35bc	2,0 – 4,0	2,99±0,25b	2,0 – 4,0	3,91±0,63b	2,0 – 5,0	3,83±0,48b	3,0 – 5,0	6,77±0,67b	4,0 – 8,0	6,73±0,54b	5,0 – 7,0
10%	2,97±0,37b	2,0 – 4,0	2,94±0,29be	2,0 – 4,0	3,99±0,61b	2,0 – 5,0	3,81±0,53b	3,0 – 5,0	6,82±0,72b	4,0 – 8,0	6,65±0,64bc	5,0 – 7,0
25%	2,99±0,47bc	2,0 – 4,0	2,93±0,31be	2,0 – 4,0	3,91±0,55b	3,0 – 5,0	3,80±0,60b	3,0 – 5,0	6,70±0,80b	5,0 – 8,0	6,52±0,71be	5,0 – 7,0
50%	2,72±0,50de	2,0 – 4,0	2,60±0,50dg	2,0 – 3,0	3,80±0,50b	3,0 – 5,0	3,66±0,53bd	3,0 – 5,0	6,19±0,98ce	5,0 – 8,0	5,78±0,93cd	5,0 – 7,0
75%	2,52±0,51df	2,0 – 3,0	2,36±0,49fg	2,0 – 3,0	3,61±0,49b	3,0 – 4,0	3,33±0,48cd	3,0 – 4,0	5,60±0,82cd	5,0 – 7,0	5,54±0,71d	3,0 – 4,0
100%	2,42±0,50df	2,0 – 3,0	2,28±0,46fg	2,0 – 3,0	3,21±0,41cd	3,0 – 4,0	3,18±0,39cd	3,0 – 4,0	5,12±0,33d	5,0 – 6,0	5,08±0,47d	3,0 – 4,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (4X).

O óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba apresentaram atividade larvívica contra *L. cuprina*. A maior mortalidade ocorreu na concentração de 50% (57%/óleo/Brasil e 59%/óleo/Cuba) (Tabela 40).

Tabela 40. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphorida), tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	12,0	12,0	1,0	1,0	13,0	13,0
DMSO	14,0	14,0	1,0	1,0	17,0	17,0
5%	41,0	44,0	14,0	18,0	63,0	68,0
10%	46,0	47,0	29,0	32,0	62,0	65,0
25%	53,0	56,0	38,0	43,0	64,0	67,0
50%	57,0	59,0	24,0	27,0	71,0	72,0
75%	49,0	51,0	13,0	19,0	64,0	77,0
100%	47,0	54,0	47,0	50,0	42,0	76,0

Experimento (4X).

CHIASSON et al. (2004) testaram o efeito do concentrado emulsificante do óleo essencial de *C. ambrosioides* sobre diversos grupos de insetos e verificaram que a concentração de 0,5% causou alta taxa de mortalidade. Outros autores também confirmaram a ação de óleos sobre o desenvolvimento pós-embriônico em dípteros como: CALLENDER & JAMES (2012) que avaliaram a ação do óleo de *Melaleuca alternifolia* (terpinen- 4 - ol chemotype) contra diferentes estágios de *L. cuprina* que parasita ovelhas na Austrália, verificando que o óleo a 1%, matou 100% dos ovos e das larvas de 1º estágio. Óleos egípcios mostraram uma alta toxicidade em *L. sericata* agindo principalmente na taxa de pupação, na emergência de adultos, na razão sexual e produzindo deformações (KHATER et al., 2011).

Os dados mostram que todas as concentrações afetaram o desenvolvimento das moscas. A concentração de 100% foi o que produziu mais deformidades nos dípteros adultos, em 51,78% (óleo/Brasil) e o óleo cubano em 54,16% (Tabela 41), dentre as deformidades estavam o tamanho reduzido, ptilíneo não retraído, asa não inflada e alteração na cor. A ocorrência de malformação após tratamento com extratos de plantas tem sido muito relatado. EL-KHATEEB et al. (2003), testaram óleos de semente de nim e de vegetais sobre larvas e pupas de *L. sericata*, já KHATER & KHATER (2009) através de ingestão do extrato das plantas *Trigonella foenum-graecum*, *Apium graveolens*, *Raphanus sativus* e *Brassica campestris* contra 3º instar larval de *L. sericata* e KHATER et al. (2011) testaram óleos de várias plantas egípcias contra *L. sericata*. As deformidades podem ser atribuídas à ação das substâncias encontradas nas plantas que inibem a metamorfose dos insetos (GERARD et al., 1997; EL-KHATEEB et al.; 2003; KHATER & KHATER, 2009). Com relação à razão sexual, não houve diferença entre as razões dos grupos tratados (óleo Brasil/ Cuba) e entre os grupos controle sem DMSO e com DMSO, porém, outros autores encontraram alterações na razão sexual de insetos após o tratamento com extratos de plantas. CABRAL et al. (2008), após tratarem *M. domestica* com *M. azedarach* verificaram alteração na razão sexual, o que foi visto por KHATER et al. (2011), que verificaram que após tratarem *L. sericata* com óleos egípcios havia uma maior predominância de machos sobre fêmeas (4:1), essa inclinação para mais machos pode levar ao declínio da população.

Tabela 41. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphorida), tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Pinus caribaea</i>
Controle		0,00
DMSO		0,00
Brasil	5%	31,08
	10%	34,21
	25%	33,33
	50%	43,10
	75%	48,08
	100%	51,78
Cuba	5%	32,81
	10%	35,71
	25%	36,36
	50%	46,43
	75%	52,17
	100%	54,16

Experimento(4X).

O óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba apresentou um efeito no peso das larvas maduras de *C. megacephala* afetando a ingestão da dieta, apresentando diferença significativa entre os tratamentos e quando comparados aos grupos controle com e sem DMSO. Quase todas as concentrações apresentaram diminuição da ingestão da carne, com exceção da concentração de 5% ($77,44 \pm 1,49$ mg óleo/Brasil e $76,83 \pm 1,65$ mg óleo/Cuba) que tiveram o peso aumentado (Tabela 42). No estudo realizado por MUKANDIWA et al. (2012b), onde estes testaram o efeito de extratos de plantas diluídos com acetona sobre *L. cuprina* e *C. marginalis* (Diptera: Calliphoridae), o aumento da concentração resultaram em diminuição da ingestão da carne. Não houve diferença significativa entre as razões sexuais dos grupos controle (com/sem DMSO) e dos grupos tratados com o óleo essencial de *P. caribaea* (Brasil e Cuba) (Tabela 42), os resultados do presente estudo, diferem dos encontrados por CABRAL et al. (2008), que observaram que o extrato bruto e frações obtidas das

sementes de *M. azedarach* sobre *M. domestica* alteraram a proporção sexual desse inseto.

Tabela 42. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)					
	Brasi	Cuba	IV		Razão Sexual	
	X ± DP#	X ± DP#	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	74,51±4,11a	74,51±4,11a	69,20 – 85,60	69,20 – 85,60	0,51	0,51
DMSO	74,27±4,05a	74,27±4,05a	68,00 – 84,00	68,00 – 84,00	0,53	0,53
5%	77,44 ± 1,49b	76,83 ± 1,65b	73,30 – 79,20	73,30 – 79,10	0,49	0,48
10%	63,09 ± 2,34c	64,05 ± 2,88c	60,20 – 71,10	61,30 – 67,90	0,48	0,49
25%	59,76 ± 5,16d	59,73 ± 4,75d	52,00 – 66,00	52,00 – 66,10	0,51	0,51
50%	51,96 ± 7,41e	53,53 ± 1,54eghi	35,00 – 67,04	50,30 – 54,80	0,48	0,51
75%	54,87 ± 1,98fg	55,07 ± 2,21fi	51,20 – 56,80	51,50 – 69,60	0,51	0,49
100%	54,79 ± 4,77fh	54,99 ± 3,31fg	43,30 – 69,50	50,00 – 68,50	0,52	0,48

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD.
X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (4X).

Na Tabela 43, quanto a duração do período larval ele foi afetado pelo óleo essencial de *P. caribaea* (Brasil e Cuba) resultando em um aumento desse período em quase todas as concentrações com exceção da concentração de 75% que reduziu (4,05 e 4,10 dias para o Brasil e para Cuba, respectivamente) mostrando diferença significativa quando comparada com os grupos controle com DMSO (4,38dias) e sem DMSO (4,42dias). Isto não foi observado por MENDONÇA et al. (2011), que utilizando o extrato liofilizado de látex de *P. amapa* diluído em água destilada (3%) em *C. megacephala* obtiveram um aumento na duração do período larval quando comparado com o grupo controle (4,8 e 4,3dias, respectivamente). O período pupal foi curto para as moscas tratadas com 50% do óleo essencial de *P. caribaea* (3,71 e 3,82dias para o Brasil e Cuba, respectivamente) quando comparado com os grupos controle com DMSO (5,18 dias) e sem DMSO (5,23dias). *C. putoria* tratadas com extratos de *M. crista* apresentaram um encurtamento na duração média do período pupal quando comparado ao grupo controle, sendo a maior diferença estatística para o tratamento de 10%, havendo diferença entre este tratamento e os tratamentos de 5 e 25% (SAMPAIO, 2012). Assim como LOPES (2010) verificou que o extrato de *P. scandens* nas concentrações de 50 e 75% provocou diminuição do período pupal em *C. putoria*. O período de neolarva a adulto apresentou um encurtamento nas concentrações de 50 e 75% do óleo essencial de *P. caribaea* coletados no Brasil e em Cuba, apresentando diferença significativa quando comparado com os grupos controle com e sem DMSO somente a concentração de 75% do óleo cubano (9,8dias). Estes dados corroboram com os encontrados por MENDONÇA et al. (2011) onde encontraram um encurtamento no período de neolarva a adulto (9,0dias) de *C. megacephala* tratadas com 1% do látex *P. amapa*.

O óleo essencial de *P. caribaea* conhecido como pinus macho, apresentou no período de neolarva a adulto uma CL₅₀ de 39,24% para o óleo essencial coletado no Brasil e uma CL₅₀ de 37,44% para óleo essencial coletado em Cuba quando foram testados em *C. megacephala*. Extratos obtidos de folhas de *P. caribaea* mostraram uma resina característica com pH de 3.0 (KANIS et al., 2009). De acordo com SALIBA et al. (2001), o pH desse extrato é atribuído ao ácido fenólico.

KANIS et al. (2009), ao testarem extratos obtidos de folhas de *P. caribaea* contra larvas de *A. aegypti* verificaram uma mortalidade em 24h com CL₅₀ de 92ppm (extrato de acetona), CL₅₀ de 713ppm (etanólico) e CL₅₀ de 2051ppm (alcalino

hidroetanólico), demonstrando a grande habilidade do solvente alcalino hidroetanólico de extrair toda a substância das folhas (16,8%) de *P. caribaea*. Possivelmente isso ocorreu devido a polaridade intermediária e o pH elevado do solvente, aumentando a solubilidade do componente do ácido fenólico. ANSARI et al. (2005) também evidenciaram resultados similares quando testaram óleo de *P. longifolia* contra larva de mosquitos de *A. culicifacies*, *C. quinquefasciatus* e *A. aegypti* na Índia, mostrando uma CL₅₀ de 82,1ppm, 85,7ppm e 112,6ppm, respectivamente. KOMALAMISRA et al. (2005) consideram a atividade larvicida de plantas como efetiva quando a CL₅₀ for abaixo de 750ppm, moderada quando for 50 – 100ppm e alta quando for abaixo de 50ppm. Então a atividade do óleo essencial de *P. caribaea* (Brasil e Cuba) diluído com DMSO se mostrou alta. A mortalidade se mostrou dose dependente em todo o período pós-embrionário (larval, pupal e de neolarva a adulto). Os resultados obtidos mostraram uma maior mortalidade no período de neolarva a adulto (Tabela 44), não diferenciando entre o óleo coletado no Brasil e em Cuba. Nossos dados corroboram os observados por BATISTA (2009) onde as maiores concentrações de *M. crista* causaram maior mortalidade em *C. albiceps*. FURTADO et al. (2005), também evidenciaram um alto poder larvicida em *A. aegypti* quando foram tratadas com os óleos essenciais diluídos em DMSO (dimetil sulfoxido) nas concentrações 100, 50, 10 e 1mg/mL. Assim como LAMIRI et al. (2001), que também evidenciaram a atividade ovicida de óleos essenciais do gênero *Citrus* contra o díptero *Mayetiola destructor* Say. (Diptera: Cecidomyiidae).

Tabela 43. Duração dos estágios pós-embrionário, de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)
Controle	4,42 ± 0,50a	4,0 – 5,0	4,42 ± 0,50a	4,0 – 5,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	5,23 ± 0,42a	5,0 – 6,0	9,63 ± 0,60ac	9,0 – 11,0	9,63 ± 0,60ac	9,0 – 11,0
DMSO	4,38 ± 0,49a	4,0 – 5,0	4,38 ± 0,49a	4,0 – 5,0	5,18 ± 0,44a	4,0 – 6,0	5,18 ± 0,44a	4,0 – 6,0	9,54 ± 0,61a	8,0 – 11,0	9,54 ± 0,61a	8,0 – 11,0
5%	4,81 ± 0,40b	4,0 – 5,0	4,84 ± 0,37b	4,0 – 5,0	6,03 ± 0,16b	6,0 – 7,0	6,04 ± 0,21b	6,0 – 7,0	10,81 ± 0,39bc	10,0 – 11,0	10,88 ± 0,45be	10,0 – 12,0
10%	4,84 ± 0,92b	4,0 – 7,0	4,93 ± 0,89b	4,0 – 7,0	6,02 ± 0,32b	5,0 – 7,0	6,05 ± 0,29b	5,0 – 7,0	10,61 ± 0,85b	9,0 – 11,0	10,89 ± 1,06bfg	9,0 – 14,0
25%	4,75 ± 0,57b	4,0 – 6,0	4,78 ± 0,56b	4,0 – 6,0	6,18 ± 0,57bd	5,0 – 8,0	6,24 ± 0,64bd	5,0 – 8,0	10,91 ± 0,87bc	9,0 – 13,0	11,02 ± 0,85cef	9,0 – 13,0
50%	5,58 ± 0,50ce	5,0 – 6,0	5,65 ± 0,48e	5,0 – 6,0	3,71 ± 0,73c	3,0 – 6,0	3,82 ± 0,73c	3,0 – 6,0	9,27 ± 0,57a	9,0 – 14,0	9,54 ± 0,68ah	9,0 – 11,0
75%	4,05 ± 0,22d	4,0 – 5,0	4,10 ± 0,31d	4,0 – 5,0	5,56 ± 1,24e	5,0 – 9,0	5,69 ± 1,28e	5,0 – 9,0	9,61 ± 1,24ah	9,0 – 14,0	9,88 ± 1,33dh	9,0 – 14,0
100%	5,28 ± 1,21c	3,0 – 7,0	5,31 ± 1,17c	3,0 – 7,0	6,49 ± 0,41d	6,0 – 7,0	6,46 ± 0,50d	6,0 – 7,0	11,14 ± 1,14bc	10,0 – 13,0	11,28 ± 0,98ceg	10,0 – 13,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento(4X).

Tabela 44. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Caliphoridae), tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	8,0	8,0	5,0	5,0	12,0	12,0
DMSO	10,0	10,0	6,0	6,0	14,0	14,0
5%	25,0	25,0	8,0	7,0	46,0	48,0
10%	27,0	29,0	9,0	8,0	51,0	53,0
25%	28,0	31,0	7,0	10,0	52,0	54,0
50%	50,0	39,0	10,0	11,0	66,0	67,0
75%	51,0	53,0	8,0	15,0	78,0	80,0
100%	66,0	68,0	11,0	12,0	86,0	88,0

Experimento (4X).

O resultado encontrado nesse experimento está de acordo com os encontrados por outros autores que estudaram os efeitos de compostos de plantas contra o desenvolvimento pós-embrionário do díptero muscoide *Peckia (Peckia) chrysostoma* (Diptera: Sarcophagidae) e *C. megacephala* (GOMES et al., 2003; e CABRAL et al., 2007). Eles também encontraram diversas alterações morfológicas nas moscas. Os dados mostram que todas as concentrações afetaram o desenvolvimento das moscas. A concentração de 100% foi a que produziu o maior número de deformidades nos dípteros adultos ficando 64,28% (óleo/Brasil) e 98% (óleo/Cuba), dentre as deformidades estavam o tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor (Tabela 35). SALLES & RECH (1999) também demonstraram a ação inseticida de extratos obtidos de frutos de *A. indica* e *M. azedarach* sobre a mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*). Os autores constataram redução da postura e do desenvolvimento larval e pupal do inseto. As larvas morreram sem conseguir fazer a ecdise, as pupas apresentaram má formação e os adultos não conseguiram expandir normalmente suas asas. Os indivíduos deformados que sobreviveram ao tratamento do óleo possivelmente terão dificuldades de locomoção, acasalamento e conseqüentemente de concluir o seu ciclo biológico. Os dois extratos vegetais demonstraram efeito inseticida sobre diferentes estágios do inseto.

Tabela 45. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Caliphoridae) tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Pinus caribaea</i>
Controle		0,00
DMSO		0,00
Brasil	5%	17,59
	10%	24,24
	25%	28,12
	50%	53,62
	75%	59,09
	100%	64,28
Cuba	5%	20,95
	10%	28,42
	25%	31,52
	50%	54,50
	75%	60,98
	100%	98,00

Experimento (4X).

Os bioensaios com o óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil e em Cuba contra *C. putoria* mostraram que ambos os óleos forma capazes de alterar o peso das larvas maduras. Os óleos se comportaram similarmente produzindo um aumento de peso nas larvas tratadas. O peso das larvas apresentou diferença significativa quando comparadas com os do grupo controle sem DMSO ($40,15 \pm 6,74\text{mg}$) e com DMSO ($45,29 \pm 4,40\text{mg}$) (Tabela 46) e entre os grupos. O menor peso foi encontrado na concentração de 100% ($25,05 \pm 7,21\text{mg/óleo-Brasil}$ e $21,79 \pm 8,18\text{mg/óleo-Cuba}$) e o maior peso para a concentração de 10% ($56,57 \pm 8,34\text{mg/óleo-Brasil}$ e $59,47 \pm 6,71\text{mg/óleo-Cuba}$), as larvas que foram tratadas com uma concentração maior de óleo (75%) ou o óleo puro (100%) parecem ter mais dificuldade de se alimentar apresentando um menor peso, demosntrando assim que o solvente DMSO não foi capaz de influenciar na ingestão do alimento. MUKANDIWA et al. (2012b), ao testarem extratos de plantas diluídos com acetona verificaram que quando se aumentava o solvente (acetona), a ingestão da dieta (carne) diminuía, afetando o peso das larvas e pupas de *L. cuprina* e *Chrysomya marginalis*. A diminuição da alimentação não foi associada concomitantemente a atividade geral das larvas, indicando assim que o efeito observado se deva provavelmente devido a diminuição da palatabilidade da dieta, porém, larvas testadas com extratos aquosos não apresentaram alteração na sua atividade alimentar. A razão sexual manteve uma proporção de aproximadamente um macho para cada fêmea (1:1), o que segundo FISHER (1930), demonstra estabilidade dentro da população (Tabela 46). Outros autores obtiveram resultados diferentes dos descritos: LOPES (2010) e SILVA (2009), ao utilizarem extrato de *P. scandens* e látex de *P. amapa* respectivamente em moscas da espécie *C. putoria*, assim como também não observaram nenhuma diferença significativa entre os tratados e o grupo controle.

Tabela 46. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya putoria* (Diptera: calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamento	Peso (mg)					
	Brasil	Cuba	IV		Razão Sexual	
	X ± DP#	X ± DP#	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	40,15 ± 6,74a	40,15 ± 6,74a	30,00 – 75,00	30,00 – 75,00	0,50	0,50
DMSO	45,29 ± 4,40b	45,29 ± 4,40b	30,70 – 49,90	30,70 – 49,90	0,49	0,49
5%	50,70 ± 3,26cf	50,40 ± 2,86f	40,00 – 57,20	43,20 – 53,70	0,51	0,47
10%	56,57 ± 8,34d	59,47 ± 6,71h	42,80 – 70,40	45,60 – 70,40	0,53	0,50
25%	46,71 ± 2,43b	46,81 ± 2,21b	40,60 – 49,60	40,50 – 49,20	0,49	0,51
50%	53,12 ± 5,15c	55,90 ± 10,02d	40,00 – 75,00	43,00 – 77,00	0,50	0,49
75%	37,49 ± 6,05e	37,19 ± 6,15e	24,20 – 48,30	23,40 – 55,00	0,47	0,45
100%	25,05 ± 7,21g	21,79 ± 8,18i	16,20 – 37,00	13,00 – 39,00	0,45	0,47

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD.
X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação), experimento(4X).

Com relação à duração do período de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal e neolarva a adulto), todos os períodos tiveram o seu tempo aumentado. O período larval de *C. putoria* teve seu menor desenvolvimento na concentração de 5% ($4,01 \pm 0,08$ dias/óleo-Brasil) e ($4,04 \pm 0,19$ dias/óleo-Cuba) diferindo significativamente dos grupos controle sem DMSO ($3,30 \pm 0,46$ dias) e com DMSO ($3,26 \pm 0,44$ dias). O pupal apresentou o seu menor tempo de desenvolvimento na concentração de 100% ($3,90 \pm 0,44$ dias/óleo-Brasil) e ($4,07 \pm 0,80$ dias/óleo-Cuba), mostrando diferença significativa quando comparado com os grupos controle com DMSO ($4,30 \pm 0,45$ dias) e sem DMSO ($4,33 \pm 0,47$ dias). A duração do período de neolarva a adulto foi menor nos tratamentos dos óleos nas concentrações 75 e 100% ($8,56 \pm 0,80$ dias/óleo-Brasil e $8,31 \pm 0,65$ dias/óleo-Cuba; $8,03 \pm 0,61$ dias/óleo-Brasil e $8,33 \pm 0,97$ dias/óleo-Cuba, respectivamente) (Tabela 47). É importante que se leve em consideração a duração e a viabilidade do período de neolarva a adulto, pois esse parâmetro demonstra ser uma das melhores variáveis para a avaliação da eficácia de qualquer substância, pois só assim seria possível evitar distorções ocorridas na duração dos períodos larval e pupal (d'ALMEIDA et al., 2001).

LOPES (2010) ao testar extrato aquoso de *P. scandens* L. (Plumbaginacea) em larvas de *C. putoria* observou que todo o período pós – embrionário dessa mosca foi afetado por esse extrato. Com exceção do tratamento de 50% que aumentou em $3,36 \pm 0,56$ dias o período larval dessa espécie, não havendo diferença significativa quando comparada com o grupo controle ($3,35 \pm 0,48$ dias). Os outros períodos se mostraram sensíveis ao extrato de *P. scandens*, reduzindo o tempo de vida de *C. putoria*. Em trabalho desenvolvido por CABRAL et al (2008), para avaliar o efeito do extrato bruto e suas frações das sementes de *M. azedarach* sobre o desenvolvimento de *M. domestica*, os autores observaram que substância dessa planta foi capaz de inibir o desenvolvimento pós-embrionário dessa mosca, com um aumento significativo do período larval a adulto, além de reduzir o peso e alterar a proporção sexual.

Tabela 47. Duração dos estágios pós-embrionário, de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Duração (dias)											
	Período Larval				Período Pupal				Período de Neolarva a Adulto			
	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)	Brasil X ± DP#	IV (Dias)	Cuba X ± DP#	IV (Dias)
Controle	3,30 ± 0,46a	3,0 – 4,0	3,30 ± 0,46a	3,0 – 4,0	4,33 ± 0,47ad	4,0 – 5,0	4,33 ± 0,47ad	4,0 – 5,0	7,55 ± 0,76a	7,0 – 9,0	7,55 ± 0,76a	7,0 – 9,0
DMSO	3,26 ± 0,44a	3,0 – 4,0	3,26 ± 0,44a	3,0 – 4,0	4,30 ± 0,46ad	4,0 – 5,0	4,30 ± 0,46ad	4,0 – 5,0	7,51 ± 0,61ac	7,0 – 9,0	7,51 ± 0,61ac	7,0 – 9,0
5%	4,01 ± 0,08b	4,0 – 5,0	4,04 ± 0,19be	4,0 – 5,0	4,96 ± 0,19b	4,0 – 5,0	4,00 ± 6,00b	6,0 – 7,0	8,00 ± 9,00c	10,0 – 11,0	9,09 ± 0,57c	8,0 – 11,0
10%	4,02 ± 0,14b	4,0 – 5,0	4,07 ± 0,25bd	4,0 – 5,0	6,28 ± 0,85d	5,0 – 7,0	6,42 ± 0,69e	5,0 – 7,0	9,00 ± 12,00d	9,0 – 12,0	10,46 ± 0,66d	9,0 – 11,0
25%	4,02 ± 0,15b	4,0 – 5,0	4,11 ± 0,32bd	4,0 – 5,0	5,16 ± 0,78b	5,0 – 8,0	5,85 ± 0,35h	5,0 – 8,0	9,19 ± 0,84c	7,0 – 11,0	10,11 ± 0,36d	9,0 – 11,0
50%	4,13 ± 0,34bd	4,0 – 5,0	4,12 ± 0,33bd	4,0 – 5,0	6,76 ± 0,43e	3,0 – 6,0	6,95 ± 0,22e	5,0 – 6,0	10,89 ± 0,54b	10,0 – 12,0	11,08 ± 0,28b	11,0 – 12,0
75%	4,07 ± 0,26bd	4,0 – 5,0	4,16 ± 0,37cde	4,0 – 5,0	4,51 ± 0,68a	3,0 – 5,0	4,13 ± 0,64gcf	3,0 – 6,0	8,56 ± 0,80e	7,0 – 10,0	8,31 ± 0,65e	7,0 – 10,0
100%	4,13 ± 0,34bd	4,0 – 5,0	4,20 ± 0,40cd	4,0 – 5,0	3,90 ± 0,44f	3,0 – 5,0	4,07 ± 0,80gf	3,0 – 5,0	8,03 ± 0,61e	7,0 – 9,0	8,33 ± 0,97e	7,0 – 10,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo de variação). Experimento (4X).

O período larval a partir da concentração de 10% no óleo essencial de *P. caribaea* coletado no Brasil apresentou dose dependente, com o aumento das concentrações as mortes aumentavam. Essa dose dependente também foi verificada no período de neolarva a adulto em ambos os óleos (Brasil/Cuba) a partir da concentração 10%, o aumento das concentrações aumentava a mortalidade (Tabela 48). Os resultados presentes apresentaram toxicidade aguda diferente. Assim, o óleo do Brasil apresentou uma toxicidade maior que o óleo de Cuba. Foi possível observar uma dose dependente a partir da concentração de 10% para os indivíduos de neolarva a adultos, os grupos testes não apresentavam uma mortalidade padronizada. BEVILACQUA et al. (2008), ao calcularem e compararem a CL_{50} do óleo puro e comercial de nim contra *Artemia* sp, verificaram que elas apresentavam diferença na toxicidade, não podendo calcular a dose resposta do óleo comercial.

Tabela 48. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya putoria* (Diptera: Caliphoridae), tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos	Mortalidade (%)					
	Período Larval		Período Pupal		Período de Neolarva a Adulto	
	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba	Brasil	Cuba
Controle	8,0	8,0	9,0	9,0	16,0	16,0
DMSO	6,0	6,0	11,0	11,0	15,0	15,0
5%	31,5	33,0	2,0	3,0	35,0	37,0
10%	28,0	32,0	3,0	3,0	34,0	37,0
25%	33,5	29,0	5,0	4,0	39,0	41,0
50%	34,0	29,0	5,0	4,0	43,0	46,0
75%	40,0	42,0	2,0	4,0	46,0	48,0
100%	49,0	51,0	5,0	7,0	55,0	59,0

Experimento (4X).

Os resultados obtidos nos experimentos não permitem inferir sobre o mecanismo de ação tóxica do óleo essencial de *P. caribaea* coletado em Cuba, porém segundo BEVILACQUA et al. (2008), a impossibilidade de calcular uma curva dose resposta para a substância por ele testada, sugere que a mesma parece agir em mecanismos essenciais para a sobrevivência dos organismos. Teste com a mosca da fruta *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) tratada com nim (*A. indica*) obtiveram uma redução no número médio de pupas em quatro das cinco concentrações testadas (STARK et al., 1990; SALLES & RECH, 1999). Dos resultados analisados observou-se que todos os tratamentos levaram a indivíduos adultos alterados morfológicamente, não se mostrando de forma padronizada dentro do grupo tratado (tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor), sendo observado também que quanto maior a concentração testada, maior foi a porcentagem de insetos alterados (Tabela 49). A menor concentração (5%) apresentou deformidades em 31,5% dos insetos tratados com o óleo essencial do Brasil e 33,0% para os tratados com óleo Cubano e a maior concentração (100%) apresentou 67% de alteração nos indivíduos tratados com o óleo essencial do Brasil e 70% para as moscas tratadas com o óleo essencial Cubano, como pode ser observado na Tabela 49. É possível que a aplicação tópica do óleo nas larvas das moscas tenha penetrado na pele e foi absorvido pelo intestino dos insetos dificultando a absorção de alguns nutrientes, acarretando na impossibilidade destes quando adultos de terminarem por completo seu desenvolvimento e inflarem suas asas. Sendo assim, esses indivíduos seriam incapazes de alçar voo e, por conseguinte, encontrar um parceiro para a reprodução.

Segundo GIOLO et al. (2006) indivíduos que têm uma dieta deficiente – em geral com falta de ácidos graxos em seu período larval – podem originar adultos com asas deformadas. CARDOSO et al. (2011) observando o mesentero de insetos tratados com nim, verificaram que aqueles indivíduos que apresentaram alterações no intestino e não conseguiram absorver os nutrientes necessários, tiveram deformidades quando adultos, além de dificuldade no processo de muda gerado pela redução na atividade alimentar. É possível que o óleo essencial de *P. caribaea* (Brasil e Cuba) testados tenham causado lesões no intestino do díptero, acarretando em disfunções deste órgão e provocando a redução de absorção dos nutrientes, do mesmo modo como ocorre em dípteros que sofrem a ação das toxinas de *Bacillus sphaericus* e *B. thuringiensis* que

lesionam o intestino médio dos insetos alvo (DROBNIEWSKI 1994, POOPATHI ET AL. 2008, POOPATHI E TYAG 2005).

MUKANDIWA et al. (2012b) também encontraram deformidades em indivíduos da espécie *L. cuprina* e *Chrysomya marginalis* (Wiedemann, 1830) ao oferecerem carne tratada com extratos de plantas para as larvas, acarretando em má formações nas pupas, algumas paralisias e redução da emergência dos adultos, sugerindo que os componentes dos extratos poderiam ter interferência nos mecanismos de controle neuroendócrino desses dípteros. SALLES & RECH (1999) relataram também, alterações morfológicas em mosca-de-fruta em todos os tratamentos testados, onde esses insetos não expandiam as asas. O mesmo efeito inseticida foi observado quando utilizou o extrato de Nin (*Azadiractha indica*) sobre esta mesma espécie de mosca e em outros tipos de insetos por CABRAL et al. (1996) e HUANG et al. (1996). JEONG et al. (2001) em seus estudos, utilizando seiva de Espirradeira (*Nerium indicum*) diluído na dieta de larvas de *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) relataram uma baixa taxa de fecundidade, este fato ocorreu devido a atrofia das glândulas sexuais dos machos adultos. É possível que além das alterações externas os insetos tratados com os óleos essenciais (Brasil e Cuba) também possam ter sofrido alterações internas. O que não foi analisado nesse estudo.

Tabela 49. Porcentagem (%) de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Caliphoridae) tratados com óleo essencial de *Pinus caribaea* Morelet. coletado no Brasil e em Cuba.

Tratamentos		Deformidades Morfológicas (%)
		<i>Pinus caribaea</i>
	Controle	0,00
	DMSO	0,00
Brasil	5%	31,50
	10%	34,50
	25%	40,50
	50%	51,50
	75%	63,50
	100%	67,00
Cuba	5%	33,00
	10%	37,00
	25%	44,00
	50%	54,50
	75%	67,50
	100%	70,00

Experimento (4X).

A duração do desenvolvimento pós-embrionário de *M. domestica* (estágio larval, pupal e de neolarva a adulto) tratadas com o terpeno Cariofileno foi 3,13; 2,50 e 6,00 dias, respectivamente, mostrando diferença significativa ($P < 0,001$) quando comparadas com os grupos controle com e sem DMSO (Tabela 50). *M. domestica* foi altamente sensível ao Cariofileno, apresentando uma redução em todos os períodos pós-embrionários. CABRAL et al. (2007), ao testarem yangambina em larvas de *C. megacephala*, observaram que esta espécie foi altamente afetada por essa substância, mostrando diferença significativa quando comparada com o grupo controle. Essa espécie teve seu período pós-embrionário afetado apresentando para o período larval, pupal e o período de neolarva a adulto 6,07, 5,48 e 10,48 dias, respectivamente.

Tabela 50. Duração dos estágios pós-embrionário, de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Período Larval X ± DP	IV (Dias)	Período Pupal X ± DP	Duração (dias)		
				IV (Dias)	Período de Neolarva a Adulto X ± DP	
Controle	6,50 ± 0,51a	6,0 – 7,0	5,37 ± 0,49a	5,0 – 6,0	11,85 ± 0,36a	11,0 – 12,0
DMSO	5,29 ± 0,47b	5,0 – 6,0	5,27 ± 0,45a	5,0 – 6,0	10,54 ± 0,90b	10,0 – 12,0
Cariofileno	3,13 ± 0,35c	3,0 – 4,0	2,50 ± 1,00b	2,0 – 4,0	6,00 ± 1,73c	5,0 – 8,0

*Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento(4X).

O período larval e o de neolarva a adulto apresentaram uma alta mortalidade ficando 73 e 87%, respectivamente (Figura 51). O que foi verificado por CABRAL et al. (2007), ao testaram as ligninas yanganbina e burchelina sobre *C. megacephala*, apresentando um efeito de baixa viabilidade no período pós-embriónico (larval e pupal).

Tabela 50. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), tratados com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	7,0	4,0	10,0
DMSO	10,0	4,0	13,0
Cariofileno	73,0	13,0	87,0

Experimento(4X).

As larvas maduras de *M. domestica* tratadas com Cariofileno apresentaram uma redução no peso ($19,66 \pm 1,18\text{mg}$) mostrando diferença significativa quando comparadas com os grupos controle com ($22,22 \pm 1,30\text{mg}$) e sem DMSO ($21,18 \pm 1,55\text{mg}$) (Tabela: 52), possivelmente essas larvas tiveram dificuldades de se alimentar devido ao composto aplicado nos insetos, tornando-se assim mais leves e conseqüentemente não conseguiram sobreviver, obtendo assim uma alta mortalidade. CABRAL et al. (2008), ao testarem extrato bruto e frações das sementes de *Melia azedarach* L. contra *M. domestica* observaram que houve uma redução no peso das pupas de todos os tratamentos quando comparados com o grupo controle (22mg) com redução de tamanhos das moscas que emergiram. SIRIWATTANARUNGSEE et al. (2008), usando um método diferente que foi misturar a solução de nim na dieta à base de carne para larva de terceiro instar de *C. megacephala* e *M. domestica* observaram que a substância reduzia significativamente a sobrevivência das larvas, pupas e a emergência dos adultos, além de alterar o peso, o tamanho e a fecundidade das gerações subsequentes de um modo dependente da dose nas duas espécies.

A espécie *M. domestica* foi altamente sensível ao Cariofileno produzindo 100% das moscas adultas (Tabela 53) com deformidades, como tamanho reduzido, ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor. KHATER et al. (2011), ao testarem óleos essenciais egípcios em terceiro estágio de *L. sericata*, também observaram que os óleos eram altamente tóxicos e ocasionaram indivíduos deformados em todos os tratamentos, sendo o óleo de alface o que ocasionou maioria das alterações morfológicas. Alguns óleos em baixas concentrações como a camomila e o alecrim afetavam a razão sexual de modo que predominassem mais machos do que fêmeas, fazendo com que houvesse um declínio da população devido ao aumento de machos. Em nossos experimentos o Cariofileno não foi capaz de intervir na razão sexual.

Tabela 52. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	X ± DP	Peso (mg)	Razão Sexual
		IV	
Controle	21,18±1,55a	19,00 – 24,00	0,54
DMSO	22,22±1,30a	20,80 – 24,20	0,56
Cariofileno	19,66 ± 1,18b	19,00 – 22,20	0,50

*Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (3X).

Tabela 53. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas(%)
	<i>Musca domestica</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Cariofileno	100,00

Experimento(3X).

A espécie *L. cuprina* ao ser tratada com o terpeno Cariofileno apresentou diminuição em todos os períodos pós-embrionários (larval, pupal e de neolarva a adulto) mostrando diferença significativa quando comparados com os grupos controle (Tabela 54). BOLSZY (2013) avaliando a ação inseticida do óleo de *M. piperita* e *L. angustifolia* contra larvas e pupas de *M. domestica*, observou um significativo aumento na duração destes períodos após tratamento, além disso, as larvas de terceiro instar apresentavam várias deformações dentre elas: inchaço do corpo, pigmentação marrom, cutícula fina e de forma irregular, as pupas incluíam pupário larviforme, formas intermediárias entre pupas e larvas e pupas encolhidas. Deformidades morfológicas também foram encontradas nos testes com *L. cuprina* tratadas com Cariofileno apresentando adultos com 40% de deformidades e o controle (com/sem DMSO) não apresentou nenhuma deformidade (Tabela 55). Os insetos tratados apresentavam tamanho reduzido, pitúrio retraído além de asas deformadas. Comparado com esses resultados SEXENA et al. (1981) reportaram deformações em larvas de *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) (Guenee). As anormalidades podem ter sido induzidas pelo óleo essencial que inibiu a metamorfose (BOLSZY, 2013). Possivelmente essa forma de pupário larviforme pode ter sido causada devido a paralisia de um músculo (KHATER & KHATER, 2009). DELEITO & MOYA-BORJA (2008) ao aplicar óleo de nim sobre pupas de *L. cuprina* encontraram indivíduos com o corpo disforme, além de não conseguirem expandir suas asas, efeito subletal atribuído ao efeito dos compostos do óleo sobre o corpus cardiacus do inseto, responsável pela secreção de hormônios que podem influenciar em uma metamorfose bem sucedida.

Tabela 54. Duração dos estágios pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Duração (dias)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
	X ± DP#	X ± DP#	X ± DP#
Controle	3,11 ± 0,32a	4,73 ± 0,45a	7,80 ± 0,40a
DMSO	3,15 ± 0,36a	4,71 ± 0,49a	7,76 ± 0,43a
Cariofileno	2,67 ± 0,49b	3,63 ± 0,52b	6,20 ± 0,45b

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (3X)

Tabela 55. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas(%)
	<i>Lucilia cuprina</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Cariofileno	40,00

Experimento (3X)

As larvas de terceiro estágio de *L. cuprina* apresentaram um peso menor (35,18mg) e com diferença significativa quando comparada ao peso dos grupos controle com DMSO (41,96mg) e sem DMSO (41,93mg) (Tabela 56), mostrando uma alta toxicidade no período de neolarva a adulto (83%) (Tabela 57), sem alteração na razão sexual. BOLSZY (2013) observou que o óleo essencial de *M. piperita* afetava mais a larva de *M. domestica* do que o óleo de *L. angustifolia*, resultando em uma CL₅₀ e CL₇₅ com valores de 2,5% (225ppm) e 3% (270ppm), respectivamente para *M. piperita* e 3% (264ppm) e 4% (352ppm), respectivamente para *L. angustifolia*. Em estudos sobre a atividade biológica de frações de *M. azedarach* sobre *L. cuprina* e *M. domestica* CABRAL et al. (2008) observaram redução no peso pupal de todas as amostras e alteração na razão sexual, mostrando uma redução do número de fêmeas (razão=0,38) no grupo tratado com a fração de metanol. A mesma substância mostrou ser altamente tóxica quando testada sobre ovos de *M. domestica*, resultando somente em 22% de eclosão.

Tabela 56. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	41,93 ± 2,62a	38,40 – 45,00	0,42
DMSO	41,96 ± 2,59a	38,40 – 44,00	0,44
Cariofileno	35,18 ± 7,25b	24,50 – 43,20	0,44

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento(3X).

Tabela 57. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	10,0	4,0	13,0
DMSO	10,0	4,0	17,0
Cariofileno	60,0	33,0	83,0

Experimento (3X).

Larvas de *C. megacephala* quando tratadas com Cariofileno tiveram seus períodos de desenvolvimento pós-embrionários (larval, pupal e de nolarva a adulto) reduzidos, com diferença significativa quando comparados com o grupo controle com DMSO (larval= $3,96 \pm 0,20$; pupal= $5,20 \pm 0,41$ e de neolarva a adulto = $9,20 \pm 0,41$ dias) e sem DMSO (larval = $3,96 \pm 0,19$; pupal= $5,23 \pm 0,43$ e de neolarva a adulto = $9,23 \pm 0,43$ dias) (Tabela 58). NARCISO et al. (2007) ao testarem neolignana burchelina isolada de *Piper tuberculatum* Jacq. (Pipereaceae), diluída em acetona nas concentrações 10 μ g/mL - 200 μ g/mL em larvas (L3/L4) de culicídeos da espécie *A. aegypti* obtiveram atraso de 15 dias na pupação e de 11 dias na emergência. A neolignana se mostrou tóxica sobre as larvas desse díptero, matando acima de 10% em todas as concentrações, resultando em uma DL₅₀= 80 μ g/mL.

Tabela 58. Duração dos estágios pós-embrionário, de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Período Larval X ± DP#	IV (Dias)	Período Pupal X ± DP	Duração (dias)		
				IV (Dias)	Período de Neolarva a Adulto X ± DP	IV (Dias)
Controle	3,96 ± 0,19a	3,0 – 4,0	5,23 ± 0,43a	5,0 – 6,0	9,23 ± 0,43a	8,0 – 10,0
DMSO	3,96 ± 0,20a	3,0 – 4,0	5,20 ± 0,41a	5,0 – 6,0	9,20 ± 0,41a	8,0 – 10,0
Cariofileno	2,83 ± 0,41b	2,0 – 3,0	4,70 ± 0,49b	4,0 – 5,0	7,29 ± 1,11b	5,0 – 8,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV (intervalo variação). Experimento (3X).

O cariofileno se mostrou altamente tóxico para *C. megacephala*, matando 77, 14 e 83% nos períodos larval, pupal e de neolarva a adulto, respectivamente (Tabela 59), além de produzir 71,43% de alterações morfológicas nos adultos (Tabela 60). MOHAMED & NAIR, 2001; CIOBOTARI & BARA, 2002, verificaram que a cafeína, além de produzir malformação alar em *Drosophila melanogaster* era capaz de causar retardamento do ciclo ontogenético e os adultos possuíam pouca mobilidade e eram viáveis. Segundo MARTINEZ–VELAZQUEZ et al. (2011), larvas de *R. sanguineus* ao serem expostas por contato residual ao óleo de alecrim também mostraram uma alta mortalidade (100%) a uma concentração de 20% do óleo essencial. Outras substâncias de plantas também são capazes de interferirem no desenvolvimento de insetos. LARANJA et al. (2006) comprovaram que a cafeína produz ação inibitória no desenvolvimento larval de *A. aegypti* e em *Xyleborus fornicatus* (Eichhoff) (Coleoptera: Scolytidae), inibindo a oviposição e retardando os estágios do ciclo de vida (HEWAVITHARANAGE et al., 1999). GREEN et al. (2002) ao misturarem um alcaloide na dieta de *Phormia Regina* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) relataram que as larvas reduziram o ganho de peso, essa diminuição também foi observada em nossos experimentos em larvas (L3) tratadas que apresentaram $53,18 \pm 12,52\text{mg}$ com diferença significativa quando comparadas com os grupos controle com DMSO ($75,75 \pm 4,51\text{mg}$) e sem DMSO ($75,75 \pm 4,51\text{mg}$) (Tabela 61). Possivelmente o Cariofileno alterou a fisiologia do inseto inibindo a alimentação (fago-inibidor ou “antifeedant”) e conseqüentemente a perda de peso das larvas maduras. Não se tem explicação da ação de substâncias secundárias no metabolismo básico das plantas, provavelmente não desempenha uma função específica (DETHIER, 1982; SCHOONHOVEN, 1972). O que se sabe é que essas substâncias secundárias podem atuar como hormônios, anti-hormônios (BOWERS et al., 1976; BOWERS, 1984), podendo atuarem também como inibidores da alimentação (“antifeedant” ou fago-inibidores) (FRANKEL, 1959; DETHIER, 1982). Fago-inibidores são compostos que ao serem ingeridos pelo inseto, bloqueia a alimentação, por um período ou para sempre, podendo levar o inseto à morte devido a falta de alimentação (FRAENKEL, 1959, 1969; CHAPMAN, 1974).

Ao contrário do que foi encontrado em nosso experimento MELLO (2012) ao investigar a ação do cornosídeo extraído do látex de *Parahancornia amapa*, sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *C. putoria* e sobre a progênie de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae), verificou que o peso larval e o tempo de desenvolvimento

pós-embrionário de *C. putoria* não foram alterados, com exceção do período pupal que foi mais lento no tratamento com cornosídeo a 5%, em relação ao controle (água destilada). Quanto à influência do cornosídeo sobre a progênie dos parasitóides: número de parasitóides razão sexual e tempo de desenvolvimento não foram alterados em nenhum aspecto quando comparada ao controle. Nos testes com *Cariofileno* também não foi observado nenhuma alteração na proporção sexual nos insetos tratados quando comparados com os grupos controle com/ sem DMSO.

Tabela 59. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	10,0	4,0	13,0
DMSO	13,0	4,0	17,0
Cariofileno	77,0	14,	83,0

Experimento (3X).

Tabela 60. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas(%)
	<i>Chrysomya megacephala</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Cariofileno	71,43

Experimento(3X).

Tabela 61. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	75,75 ± 4,51a	70,00 – 85,60	0,46
DMSO	75,78 ± 4,06a	70,00 – 84,00	0,55
Cariofileno	53,18 ± 12,52b	43,20 – 74,30	0,51

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão.IV(intervalo de variação). Experimento(3X).

Segundo d' ALMEIDA et al. (2001), a duração e a viabilidade da larva recém-eclodida até o período adulto é o melhor parâmetro para avaliar a eficácia da substância no organismo, isso evita possíveis erros entre o período larval e pupal. As larvas de *C. putoria* tratadas com Cariofileno tiveram o período larval ($4,13 \pm 0,35$ dias) e de neolarva a adulto ($8,00 \pm 0,47$ dias) aumentado, e o período pupal ($3,82 \pm 0,40$ dias) reduzido (Tabela 48). A duração desses períodos para os grupos controle foi de $3,17 \pm 0,27$ dias com/DMSO e sem/DMSO $3,04 \pm 0,19$ dias para o período larval para o período de neolarva a adulto foi de $7,16 \pm 0,37$ dias com/DMSO e $7,31 \pm 0,47$ dias/ sem DMSO. MENDONÇA et al. (2011) testaram o efeito do látex liofilizado de *P. amapa* diluído em água contra *C. megacephala* e verificaram que a uma concentração de 1% o látex encurtou a duração de larvas recém eclodidas a adulto (9 dias) e nas concentrações de 2 e 3% o período foi maior (10 dias). MELLO et al. (2010) testando o látex de *E. splendens* var. *hisloppii* uma Euphorbiaceae contra *M. scalaris*, verificaram que ele foi capaz de reduzir todo o período pós-embrionário desse díptero. *Muscina stabulans* (Diptera: Muscidae) tratadas com extrato etanólico de folhas de *Nerium oleander* (Apocinaceae) teve o período larval e pupal atrasado (EL SHAZLY et al., 1996).

Tabela 48. Duração dos estágios pós-embriológico, de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Período Larval X ± DP#	IV (Dias)	Período Pupal X ± DP#	Duração (dias)		
				IV (Dias)	Período de Neolarva a Adulto X ± DP#	IV (Dias)
Controle	3,04 ± 0,19a	3,0 – 4,0	4,26 ± 0,45a	4,0 – 5,0	7,31 ± 0,47a	7,0 – 8,0
DMSO	3,17 ± 0,27a	3,0 – 4,0	4,08 ± 0,28a	4,0 – 5,0	7,16 ± 0,37a	7,0 – 8,0
Cariofileno	4,13 ± 0,35b	4,0 – 5,0	3,82 ± 0,40b	3,0 – 4,0	8,00 ± 0,47b	7,0 – 9,0

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (3X).

C. putoria foi altamente afetada pelo Cariofileno levando a uma mortalidade de 50, 27 e 83% para os períodos larval, pupal e de neolarva a adulto, respectivamente (Figura 49), apresentando um aumento de peso ($54,28 \pm 3,64\text{mg}$) com diferença significativa quando comparado com os grupos controle com/ DMSO ($45,94 \pm 2,51\text{mg}$) e sem/DMSO ($40,83 \pm 0,80\text{mg}$) (Tabela 49). Contrário aos nossos resultados CABRAL et al. (2007) ao testarem neolignanas em *C. megacephala* verificaram que essa substância reduziu o peso das larvas maduras em 6%, sugerindo que houve uma absorção das substâncias pela cutícula da quitina. Como resultados eles obtiveram uma viabilidade de neolarva a adulto de *C. megacephala* expostas a estas drogas de 41%, ($p < 0,001$) para Bur e de 39% com ($p < 0,001$) para Yg, para a espécie *C. albiceps* foi de apenas 33% Yg ($p < 0,001$). O látex de *E. splendens* var. *hislopii* também foi capaz de reduzir a viabilidade de *M. scalaris* para menos de 51,5%, quando tratada tópicamente (MELLO et al. 2010).

Tabela. Mortalidade (%) dos estágios pós-embrionários de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratados com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Mortalidade (%)		
	Período Larval	Período Pupal	Período de Neolarva a Adulto
Controle	7,0	4,0	13,0
DMSO	13,0	4,0	17,0
Cariofileno	50,0	27,0	67,0

Experimento (3X).

Tabela 49. Peso das larvas maduras (mg), e razão sexual de *Chrysomya putoria* (Diptera:Calliphoridae), tratadas com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	X ± DP#	Peso (mg)	
		IV	Razão Sexual
Controle	40,83 ± 0,80a	39,00 – 41,60	0,54
DMSO	45,94 ± 2,51a	42,20 – 49,90	0,48
Cariofileno	54,28 ± 3,64b	49,60 – 59,30	0,44

#Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD.
X= Média e DP= Desvio Padrão. IV(intervalo de variação). Experimento (3X).

No experimento os adultos foram altamente afetados mostrando uma taxa de deformidade de 84,61%, apresentando principalmente alterações no tamanho dos adultos (diminuição), além de ptilínio não retraído, asa não inflada e alteração na cor (tom acinzentado) (Tabela 50), porém essa substância não foi capaz de influenciar na razão sexual. Resultados similares têm sido registrados para outras plantas com outras espécies de díptero muscoide. Por exemplo: MUKANDIWA et al. (2012a) registraram que *L. cuprina* e *C. marginalis* dois califorídeos expostos a *Clausena anisata* (Willd) Hook (Rutaceae) e *Spirostachys africana* Sond. (Euphorbiaceae) a uma concentração de 100mg/mL reduziu significativamente os tamanhos das moscas adultas, porém elas ainda eram capazes de colocar ovos viáveis. O mesmo resultado foi encontrado por WEBBER (1955) que verificou que adultos de *L. cuprina* de tamanho reduzido originário de larvas que não se alimentaram foram capazes de gerar ovos.

Para os extratos com acetona de *Aloe zebrina* L. (Asphodelaceae) e *E. lysistemon* (Fabaceae), MUKANDIWA et al. (2012a) obtiveram pupas deformadas com formato de larvas, os extratos de *C. anisata* e *S. africana* não geraram malformação nas pupas, porém na concentração $\geq 100\text{mg/mL}$ elas apresentaram um tamanho significativamente menor quando comparadas com o grupo controle. PONTES et al. (2007) relataram a ação dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiya sericea* St. Hil. (Annonaceae) interferindo na fecundidade do ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acara: Tetranychidae). Os efeitos são similares quando se expõem os insetos aos reguladores de crescimento (IGRS), esse grupo de substância atua principalmente sobre o período pós-embrionário larval e ninfal por interferir na metamorfose e na reprodução, muitas vezes levando mais tempo para reduzir a população do inseto do que os inseticidas normais (GRAF, 1993).

Tabela 50. Porcentagem de deformidades morfológicas de adultos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae), tratados com o terpeno Cariofileno.

Tratamentos	Deformidades Morfológicas (%)
	<i>Chrysomya putoria</i>
Controle	0,00
DMSO	0,00
Cariofileno	84,61

Experimento (3X).

O resultado obtido nesse estudo demonstrou que tanto o óleo essencial de *P. caribaea* quanto o seu componente majoritário, o monoterpene Cariofileno, apresentaram potencial atividade inseticida sobre o período pós-embrionário dos dípteros muscoides. Conforme descrito na literatura o óleo essencial tem mostrado ação efetiva em estudos farmacológicos e suas aplicações populares se mostram eficazes. Entretanto há poucos estudos referentes a sua ação inseticida, fazendo com que esse estudo agregue mais conhecimento ao tema.

6- CONCLUSÕES

Em vistas das questões levantadas concluiu-se que:

Apesar dos óleos essenciais serem de países diferentes, eles agiram de maneira semelhante no desenvolvimento pós-embrionário dos insetos testados;

A análise química do óleo essencial de *Pinus caribaea* procedente do Brasil permitiu identificar 12 substâncias químicas, sendo o β -Felandreno, Germacreno D e (E) Cariofileno os majoritários, com áreas relativas de 39,57; 26,57 e 16,85% respectivamente.

A análise do óleo das folhas de *P. cariabea* provenientes de Cuba resultou na identificação de 20 substâncias sendo também nesse óleo, o Germacreno D (48,25%), o Óxido de Cariofileno (12,41%) e o β -Felandreno (1,56%) os constituintes majoritários.

Quanto a ação inseticida o óleo essencial de *Pinus caribaea* (Brasil/Cuba) e o monoterpene Cariofileno mostraram ser mais tóxico para a espécie *M. domestica*.

Aparentemente os resultados da atividade inseticida dos óleos essenciais do Brasil e de Cuba sobre os dípteros muscoides mostraram potencial para serem usados no desenvolvimento de produtos “eco-friendly”, que não afetam o meio ambiente;

Estes resultados sugerem que a bioatividade de *Pinus caribaea* depende da dose e do tipo de tratamento utilizado, e da espécie do inseto da atividade e da estrutura química da substância.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSARI, M. A.; MITTAL, P. K.; RAZDAN, R. K.; SREEHARI, U. Larvicidal and insect repellent activities of pine (*Pinus longifolia*, Family: Pinaceae) oil. *Journal Veterinary Borne Disease*, v.42, p.95-99, 2005.
- BARTOLA, F. L.; CEDEÑO, A. Inter-population differences in the essential oils of *Pinus caribaea* needles. Biochemical. Facultad de Ciencias, Instituto de Zoología Tropical, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. *Systematics and Ecology*, v. 28, p. 923:931, 2000.
- BAPTISTA, T. C. C. Avaliação dos efeitos inseticidas de *Mentha crispa* L. (Lamiaceae) sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório. 2010. Monografia. 46p. (Aperfeiçoamento/Especialização em Especialização em Entomologia Médica) - Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ.
- BATISTA DA SILVA, J. A.; ABÁDIO, H. C.; QUEIROZ, M. M. C. Mífase humana por *Dermatobia hominis* (Linneaus Jr.) (Diptera:Cuterabridae) e *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera:Calliphoridae) em Sucessão Parasitária. *EntomoBrasilis* v. 2, n. 2, p. 61- 63, 2009.
- EVILACQUA, A. H. V.; SUFFREDINE, I. B.; BERNARDI, M. M. Toxicidade de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), em *Artemia* sp: Comparação da preparação comercial e do óleo puro. *Ver. Inst. Ciênc. Saúde*. v. 26, n. 2, p. 157 – 160, 2008.
- BOLSY, A. H. Evaluation of insecticidal activities of *Mentha piperita* and *Lavandula Angustifolia* essential oils against house fly, *Musca domestica* L. (Diptera:Muscidae). *Journal of Entomology and Nematology*, v. 5(4), p. 50 -54, 2013.
- BOWERS, W. S.; OHTA, T.; CLEERE, J. S.; MARSELLA, P. A. Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants *Science*, v.193, p. 542 -547, 1976.
- BOWERS, W. S. *Insect-plant interaction: endocrine defences*. v.102, p.119 – 131. In: *Origins and Development of Adaptation*. Pitman, B. (Ed). London, 273p., 1984.
- CABRAL, M. M. O; GARCIA, E. S.; REMBOLD, H. Antimoulting activity in Brazilian *Melia azedarach*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 117-118, 1996.
- CABRAL, M. M. O.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; QUEIROZ, M. M. C.; MELLO, R. P. Biological activity of neolignans on the post-

embryonic development of *Chrysomya megacephala*. *Fitoterapia*. v. 78, p. 20 -24, 2007.

CABRAL, M. M. O.; CRESCENTE, E. R. F.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; OLIVEIRA, V. C.; KELECOM, A. *Melia azedarach* L. extracts and their activity on *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*.v. 18, p. 699-702, 2008.

CALLENDER, J. T.; JAMES, P. J. Insecticidal and repellent effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil against *Lucilia cuprina*. *Veterinary Parasitology*, v. 184, p. 271 – 278, 2012.

CARDOSO, A, CONTE, H, NANYA, S. *Estudo morfológico do mesentero em larvas de Dione juno juno Cramer, 1779 (Lepidoptera: Nymphalidae) submetidas a tratamentos com Nim (Azadirachta indica, Meliaceae) em condições de laboratório*. VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 2011.

CARRIÇO, C.; PINTO, Z. T.; DUTOK, C. M. S.; CAETANO, R. L.; PESSANHA, R. R., CHIL-NUÑEZ, I.; MENDONÇA, P. M.; ESCALONA – ARRANZ, J. C.; REYES – TUR, B.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). *Rev. Brasileira de Farmacognosia*. v.24, p. 304-308, 2014.

CHAPMAN, R. F. The chemical inhibition of feeding by phytophagous insects: a review. *Bull. Ent. Res.* v.64, p. 339 – 363, 1974.

CHIASSON, H.; VINCENT, C.; BOSTANIAN, N. J. Insecticidal properties of a Chenopodium-based botanical. *Journal of Economical Ecology*, v. 97, n. 4, p. 1378-1383, 2004.

CHOWDHURY, U. J.; BHUIYAN, I. N.; NANDI, C. N. Essential oil constituents of needles, dry needles, inflorescences and resins of *Pinus cariabea* Morelet growing in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Botany*. v. 37, n. 2, p. 211 – 212, 2008.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTLÉ, J.; VLIENTINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, p. 213-220, 2002

CIOBOTARI, G. V.; BARA, I. I. The coffeine effect on *Drosophila melanogaster* individuals. *Analele Stiintifice ale Universitatii “AL L Cuza” din Iasi Serie Noua Sectiunez II a Genetica si Biologie Moleculara*. v. 3, p. 131 – 132, 2002.

- d'ALMEIDA, J. M., FERRO, C. L., FRAGA, M. B. Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) em Dietas Artificiais. *Acta Biol. Leopoldensia* v.23, p.4-7, 2001.
- DELEITO, C. S. R.; MOYA-BORJA, G. E. Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. *Pesq. Vet. Bras.* v.28, n.6, p.293-298, 2008.
- DOB, T.; BERRAMDANE, T.; CHELGOUM, C. Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria. *C.R. Chimie.*, v.8, p. 1939-1945, 2005.
- DROBNIEWSKI, F. A. The safety of Bacillus species as insect vector control agents. *J. Appl. Microbiol.* v.76, n. 2, p. 101-109, 1994.
- ESSER, J. R. Biology of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and reduction of losses caused to the salted-dried fish industry in south-east. *Bulleting of Entomomlogical Reserearch*, n. 81, p. 33-41, 1991.
- EKUNDAYO, O. Monoterpene Composition of the Needle Oils of *Pinus* Species. *J. Chromatogr. Sci.* v.16, p. 294-295, 1978.
- EKUNDAYO, O. Volatile constituents of *Pinus* needle oils. *Flavour Fragr.* v.3, n. 1, p. 1-11, 1988.
- EL-KHATEEB, R. M.; ABDEL-SHAFY, S.; ZAYED, A. A. Insecticidal effects of neem seed and vegetable oils on larval and pupal stages of sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Diptera:Calliphoridae). *J. Egypt. Vet. Med. Assoc.* v. 63, p. 255 – 268, 2003.
- EL-SHAZLY, M. M.; NASSAR, M. I.; EL-SHERIEF, H. A. Toxic effect of ethanolic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera: Muscidae). *J. Egypt. Soc. Parasitol.* v. 26, p. 461-473, 1996.
- FERNÁNDEZ-SANCHÉZ, F.; MARÍN-MORAN, J. E.; PINTO, Z. T.; QUEIROZ, M. M. C.; ESCALONA-ARRANZ, J. C. Evaluación de las condiciones de extracción por hidrodestilación-cohobación del aceite esencial del follaje de *Pinus caribaea* Moelet var. *Caribaea* (droga seca). *Revista Cubana de Química.* v.21, n. 1, p. 100-108, 2013.
- FISHER, R. A. *Seleção gênica*. In: FUTUYAMA, D. J. *Biologia Evolutiva*. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP, pp. 631.1930.
- FRANCIS, J. K. *Pinus caribaea* Morelet. *Caribbean pine*. New Orleans: Department of agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 10 p., 1992.

- FRAENKEL, G. S. The raison d'être of secondary plant substances. *Science*, v.129, p.1466-147, 1959.
- FUENTES, J. L.; VERNHE, M.; CUETAVA, E. B.; SANCHEZ-LAMAR, A.; SANTANA, J. L.; LLAGOSTERA, M. Tannis from barks of *Pinus caribaea* protect *Escherichia coli* cells against DNA damage induced by γ -rays. *Fitoterapia.*, v. 77, n 2, p. 116-120, 2006.
- FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; NETO, M. A.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. V. SILVA. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*. v. 34, n. 5, p. 843 – 847, 2005.
- GABRE, R. M.; ADHAM, F. K.; CHI, H. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Internacional Journal of Ecology*, n. 27, p. 179-183, 2005.
- GIOLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; MANZONI, C. G.; BERNARDI, O.; ZART, M. Biologia de *Helicoverpa zea* (Baddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. *R. Bras. Agrociência*. Pelotas, v.12, n.2, p. 167 -171, 2006.
- GOMES, C. M. S.; d'ALMEIDA, J. M.; SANTOS, J. A. A. Avaliação do efeito do latex de *Euphorbia splendens* va. *Hislopilii* (N.E.B.) (Euphorbiaceae), no desenvolvimento pós-embrionário de *Peckya chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Sarcophagidae), em condições de laboratório. *Entomol. Y Vect.* v. 10, p. 109- 120, 2003.
- GRAF, J. F. The role of insect growth regulators in arthropod control. *Parasitology Today*.v. 9, p. 471 – 474, 1993.
- GREEN, P. W. C.; SIMMONDS, M. S. J.; BLANEY, W. M. Toxicity and behavioural effects of diet-borne alkaloids on larvae of the black blowfly, *Phormia regina*. *Medical and Veterinary Entomology*. v. 16, n. 2, p. 157 – 160, 2002.
- HEWAVITHARANAGE, P.; KARUNARANTNE, S.; KUMAR, N. S. Effect of caffeine on shot hole borer beetle (*Xyleborus fornicatus*) of tea (*Camellia sinensis*). *Phytochemistry* (Oxford). v. 51, n. 1, p. 35 – 41, 1999.
- HOPKINS, R. J.; Van DAM, N. M.; Van LOON, J. J. A. Role of Glucosinolates in Insect-Plant Relationships and Multitrophic Interactions. *Annual Review of Entomology*, v. 54, n. 1, p. 57-83, 2009.
- HUANG, R. C.; ZHOU, J. B.; SUENAGA, H. Insect anti-feeding property of limonoids from Okinawan and Chinese *Melia azedarach* L., and from Chinese *Melia tosendan* (Meliaceae). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 59, p. 1755-1757, 1996.

JEONG, E. S.; LEE, Y.; HWANG, J. H.; KNIPPLE, D. C. Effect of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera, Noctuidae). *The Journal Experimental Biology*, n. 204, n. 3935-3942, 2001.

KANIS, L. A.; ANTONIO, R. D.; ANTUNES, E. P.; PROPHIRO, J. S.; SILVA, O. DOS S. Efeito larvicida dos extratos de folhas secas de *Pinus caribaea* contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v.42, n. 4, p. 373- 376, 2009.

KHATER, H. F.; SHALABY, A. A. Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from an Egyptian locality. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. v.50, p. 107 – 112, 2008.

KHATER, H. F.; KHATER, D. F. The insecticidal activity of four medicinal plants against the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Int. J. Dermatol.* v. 48, p. 492 – 497, 2009.

KHATER, H. F.; HANAFY, A.; ABDEL – MAGEED, A. D.; RAMADAN, M. Y.; EL-MADAWY, R. S. Control of the Myiasis-producing fly, *Lucilia sericata*, with Egyptian essential oils. *International journal of dermatology*, v. 50, p. 187 -194, 2011.

KOMALAMISRA, N.; TRONGTOKIT, Y.; RONGSRIYAM, Y.; APIWATHNASORN, C. Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. v. 6, p. 1412 – 1422, 2005.

KOZAN, E.; KUPELI, E.; YESILDA, E. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *J. Ethnopharmacol.*, v. 108, n. 2, p. 211-216, 2006.

LAMIRI, A.; LHALOUI, S.; BENJILALI, B.; BERRADA, M. Insecticidal effects of essential oils against Hessian Fly *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Res.* v. 71, p. 9 – 15, 2001.

LARANJA, A. T.; MANZATO, A. J.; MELARA - DE – CAMPOS – BICUDO, H. E. Caffeine effect on mortality and oviposition in successive generations of *Aedes aegypti*. *Revista de Saude Publ.* v. 40, n. 6, p. 1112 – 1117, 2006.

LEVOT, G. W.; BROWN, K. R.; SHIPP, E. Larval growth of some Calliphorid and Sarcophagid (DIPTERA). *Bulleting of Entomomological Reserearch*, Asia, n. 69, p. 469-475. 1979.

- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Amazonica*. v. 39, n. 2, p. 377 – 382, 2009.
- LOPES, M. B. P. Efeitos dos compostos do extrato de *Plumbago scandens* (Linnaeus, 1758) (Plumbaginaceae) sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (wiedemann, 1818) (díptera: calliphoridae), em condições de Laboratório. 2010. Monografia. 53p. Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Castelo Branco.
- LÓPEZ, R. M.; GONZÁLEZ, A. M.; ACOSTA, L. T. Cáceres G.J actividad antifúngica in vitro del *Pinus caribaea* (pino macho). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 2, n.1, p.25-29, 1997.
- MACCHIONI, M.; CIONI, P. I.; FLAMINI, G.; MORELLI, I.; MACCIONI, S.; ANSALDI, M. Chemical composition of essential oils of needles, branches and cones of *Pinus. Pinea, P. halepensis, P. pinaster* and *P. nigra* from Central Italy, *Flavour and Fragrances*, v.18, n. 2, p. 139-143, 2003.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. *Plantas Medicinai*s. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 220p, 1995.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO – CRUZ, R.; CASTILLO – HERRERA, G.; FLORES – FERNANDEZ, J M.; ALVAREZ, A. H.; LUGO – CERVANTES, E. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *allium sativum* (Liliales: Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:Ixodidae). *J. Med. Entomol.* v. 48, p. 822 – 827, 2011.
- MELLO, C. B.; UZEDA, C. D.; BERNARDINO, M. V.; MENDONÇA - LOPES, D.; KELECOM, A.; FEVEREIRO, P.C.A.; GUERRA M.S.; OLIVEIRA, A.P.; ROCHA, L. M.; GONZALEZ, M.S. Effects of the essential oil obtained from *Pilocarpus spicatus* Saint Hilaire (Rutaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* ninphae. *Braz. J. Farmacog.* v. 14, n. 4, p. 514 - 521, 2007.
- MELLO, S. R. *Biologia de Califorídeos (Diptera): Fotorresposta, Parasitismo e Controle*. 2012, 135f. Tese Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- MENDONÇA, P. M.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; LIMA, M. G.; CARVALHO, M. G.; QUEIROZ, M. M. C. Avaliação dos efeitos do látex de *Parahancornia amapa*

(Apocynaceae) sobre o desenvolvimento de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). Apresentação no XXVII Congresso Brasileiro de Zoologia, 2008, Curitiba, Paraná.

MENDONÇA, P. M.; LIMA, M. G.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; CARVALHO, M. G.; QUEIROZ, M. M. C. Effects of latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) post-embryonic development. *Veterinary Parasitology*, v. 178, p. 379 – 382, 2011.

MOHAMED, P.; NAIR, V. R. Effect of caffeine on wing morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Entomon.* v. 26, n. 1, p. 87 – 90, 2001.

MUKANDIWA, L.; McGae, L. J.; ELOFF, J. N.; NAIDOO, V. Extracts of four plant species used traditionally to treat myiasis influence pupation rate, pupal mass and adult blowfly emergence of *Lucilia cuprina* and *Chrysomya marginalis* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Ethnopharmacology*. v. 143, p. 812 – 818, 2012a.

MUKANDIWA, L, ELOFF, J. N, NAIDOO, V. Evaluation of plant species used traditionally to treat myiasis for activity on the survival and development of *Lucilia cuprina* and *Chrysomya marginalis* (Diptera: Calliphoridae). *Vet Parasitol.* v.190, p.566-572, 2012b.

NARCISO, J. O. A.; NOGUEIRA, C. D. R.; LEITE, A. C. C.; GUIMARÃES, A. E.; ALENCAR, J. A. F.; CABRAL, M. M. OLIVEIRA. Burchelina: Uma neolignan com atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae). 59^a Reunião Anual da SBPC. Belém, 8 a 13 de Julho de 2007.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. A. G. *Quim. Nova.* v. 30, n. 4, p. 838 – 841, 2007.

PIRALI - KHEIRABADI, K.H., RAZZAGHI ABYANEH, A.H. Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globulus* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus* (Boophilus) *annulatus in vitro*. *Veterinary Parasitology*, v. 162, p. 346 – 349, 2009.

POOPATHI, S, PHILIP SAMUEL, P, SUNDARAVADIVELU, K, RAMESH, N, TYAGI, B. K. Ultrastructural changes in the lysosomes of the midgut epithelial cells of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) following infection with *Bacillus sphaericus* IAB59 toxin. *Int. J. Trop. Insect Sci.* v.28, n.4, p.185-190, 2008.

POOPATHI, S, TYAGI, B. K. Mosquitocidal toxins of spore forming bacteria: recent advancement. *Afr. J. Biotechnol.* 3(12), 643-650, 2005.

QUERT, R.; LEYVA, B.; MARTÍNEZ, J. M.; GELABERT, F.; Contenido de carotenos em el follaje de *Pinus carbaea* Morelet. *Revista Cubana de Farmacia*, v.31, n. 2, p. 87 - 92, 1997.

REIS, S. F.; STANGENHAUS, G.; GODOY, W. A. C.; VON-ZUBEN, C. J.; RIBEIRO, O. B. Variação em caracteres bionômicos em função de densidade larval em *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). *Revista Brasileira de Entomologia*, n. 38, p. 33-46, 1994.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito do extrato de Nim (*Azadiractha indica*) e Cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 5, n. 3, p. 225-227, 1999.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L.; PILÓ-VELOSO, D. Lignins- Isolation methods and chemical characterization. *Ciência Rural*. v. 31, p. 917 – 928, 2001.

SAMPAIO, V. DA SILVA. *Bioatividade de Mentha crispa L. (Lamiaceae) sobre o desenvolvimento pós-embrionário de Chrysomya putoria (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae)*, em laboratório. 2012. Monografia. 29p. Graduação em Ciências Biológicas- UFRRJ.

SARFRAZ, M.; DOSDALL, L. M.; KEDDIE, B. A. Diamondback moth-host plant interactions: Implications for pest management. *Crop Protection*, v. 25, n. 7, p. 625-639, 2006.

SCHOONHOVEN, L. M. *Plant recognition by lepidopterous larvae*. In *Insect/Plant Relationships*. H F van Emden, editor. Blackwell, Oxford. 87-100, 1972.

SEXENA, R. C.; LIQUIDO, N. J.; JUSTO, H. D. Neem seed oil, a potential antifeedant for the control of the rice brown plant hopper, *Nilaparvata lugens*. *Proc 1st Int Neem Conf* (Rottach-Egern, Germany. 1980): PP. 171 – 187, 1981.

SILVA, A. C. L. *Efeitos dos compostos de latex de Parahancornia amapa (Huber) (Apocynaceae) sobre o desenvolvimento de Chrysomya putoria (Wiedmemmann, 1818) (Diptera: Calliphoridae)*. 2009. Monografia, 59p. Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Castelo Branco.

SIRIWATTANARUNGSEE, S.; SUKONTASON, K. L.; KUNTALUE, B.; PIANGJAI, S.; OLSON, J. K.; SUKONTASON, K. Morphology of the puparia of the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) and blowfly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) *Parasitology Research*. v. 96, p.166–170, 2005.

- SONIBARE, O. O. and OLAKUNLE, K. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Pinus caribaea* from Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 14, p. 2462-2464, 2008.
- STARK, J. D.; VARGAS, R. I.; THALMAN, R. K. Azadiracthin effects on metamorphosis, longevity and reproduction of the three tephritid fruit fly species (Diptera). *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 83, n. 6, p. 2168 - 2174, 1990.
- STEVANOIC, T. F.; GARNEAU, F.; JEAN, F. I.; GAGNON, H.; VILOTIC, D. PETROVIC, S; RUZIC, N.; PICHETTE, A. The essential oil composition of *Pinus mugo* Terra from Serbia, *Flavour and Fragrances*, v. 20, n. 1, p. 96-97, 2004.
- VON-ZUBEM, Cláudio José. Comportamento de oviposturas individuais, percentagem de peso larval mínimo para pupação em populações de *Chrysomya megacephala*. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.27, n. 4, p. 525-533, 1998.
- WEBBER, L. G. The relationship between larval and adult sizes of the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina* (Wide.). *Australian Journal of Zoology*. v.3, p. 346 – 353, 1955.

8- CONCLUSÕES GERAIS

1- Os compostos dos óleos do Brasil e de Cuba apresentaram variação qualitativa e quantitativa na sua composição química. Essa variação pode estar relacionada tanto ao genótipo das plantas como a sua localização geográfica e a composição do solo de origem, visto que as plantas cubanas foram cultivadas em solo rico em níquel laterítico, o que não foi observado em solo brasileiro.

2 - O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* obtidos no Brasil e em Cuba não apresentaram diferenças significativas com relação à atividade bioinseticida no desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides.

3 - O óleo essencial de *Pinus caribaea* (Brasil/Cuba) apresentaram uma maior atividade bioinseticida no desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides quando comparado ao óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Brasil/Cuba).

4 - Os compostos isolados Citral e Cariofileno mostraram possuir ação inseticida no desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros muscoides. A espécie *Chrysomya megacephala* se mostrou mais sensível ao monoterpene Citral e *Musca domestica* se mostrou mais sensível ao Cariofileno.

5 - Esses estudos indicam que esses óleos e seus metabólitos isolados podem ser promissores no desenvolvimento futuro de bioinseticidas naturais de dípteros muscoides que poderão ser integrados a outros programas de controle biológico.

ANEXOS

Anexo A- Artigo Aceito 2013 - “Evaluación de las condiciones de extracción por hidrodestilación-cohobación del aceite esencial del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* (droga seca)”

Anexo B- Carta de Aceite do Editor

Anexo A

**Evaluación de las condiciones de extracción por
hidrodestilación-cohobación del aceite esencial del follaje de
Pinus caribaea Morelet var. *caribaea* (droga seca)**
*Extraction Condition Evaluation of *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Essential Oil
Foliage (Dry Drug) by Hydrodistillation-Cobobation*

Lic. Félix Fernández-Sánchez¹, Ms. C. Jorge Eric Marín-Morán^{II}, Ms. C. Zeneida Teixeira-Pinto^{III},
Dra. C. Margareth Maria de Carvalho-Queiroz^{IV}, Dr. C. Julio César Escalona-Arranz^V ✉
jcea@cmt.uo.edu.cu

¹Laboratorio de Aseguramiento de la Calidad, Moa, Holguín, Cuba; ^{II}Departamento de Farmacia, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ^{III}Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Laboratório de Educação em Ambiente e Saúde/FIOCRUZ, Bolsista CAPES, Brasil; ^{IV}Instituto "Oswaldo Cruz", Rio de Janeiro, Brasil

● Resumen

Se realizó un estudio con el objetivo de seleccionar las condiciones de extracción por el método de hidrodestilación (cohobación) del aceite esencial del follaje de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* (droga seca). Los factores estudiados en el proceso de extracción fueron el tamaño de partícula (1,25; 0,6; 0,25 y 0,18 mm); la relación droga seca-agua (1:7, 1:12 y 1:16 g/mL); y el tiempo de extracción (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 y 360 min); mientras que como variable respuesta se consideró el rendimiento de aceite esencial (%). Los resultados demuestran que tanto el tamaño de partícula como el tiempo de extracción tienen efectos significativos sobre el rendimiento de aceite esencial (valor de $P < 0,05$), a diferencia de la proporción droga-agua la cual no influye significativamente sobre el proceso extractivo. El máximo rendimiento obtenido

Anexo B

CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO

De: zacariascbpv@fcav.unesp.br
Assunto: Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária - Decision on Manuscript ID RBPV-2014-0117.R2
Data: Seg, 17 de Nov, 2014 13:56
Para: zeneida@ioc.fiocruz.br

17-Nov-2014

Dear Dr. Pinto:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Cymbopogon citratus* from Cuba and Brazil against housefly" in its current form for publication in the *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Prof. Rosângela Machado
Editor-in-Chief, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*
zacariascbpv@fcav.unesp.br