

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

**DISSERTAÇÃO**

**Avaliação da atividade inseticida *in vitro* de óleos essenciais  
sobre adultos de *Haematobia irritans***

**Brena Gava Guimarães**

**2023**



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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA *in vitro* DE ÓLEOS  
ESSENCIAIS SOBRE ADULTOS DE *Haematobia irritans***

**BRENA GAVA GUIMARÃES**

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

*e Coorientação*  
**Barbara Rauta de Avelar**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências  
Veterinárias**, no Programa de Pós-  
Graduação em Ciências  
Veterinárias, Área de Concentração  
em Parasitologia.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

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

G963a      Guimarães, Brena Gava, 1994-  
Avaliação da atividade inseticida in vitro de óleos  
essenciais sobre adultos de Haematobia irritans /  
Brena Gava Guimarães. - Seropédica, 2023.  
70 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Coorientadora: Barbara Rauta de Avelar.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em  
Ciências Veterinárias, 2023.

1. Haematobia irritans. 2. óleo essencial. 3.  
atividade inseticida. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-,  
orient. II. de Avelar, Barbara Rauta, 1987-,  
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-graduação em Ciências  
Veterinárias. IV. Título.



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



ATA N° 4915/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

N° do Protocolo: 23083.057831/2024-61

Seropédica-RJ, 22 de outubro de 2024.

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

**BRENA GAVA GUIMARÃES**

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 03/03/2023

*(Assinado digitalmente em 23/10/2024 13:22)*

FABIO BARBOUR SCOTT  
COORDENADOR CURS/POS-GRADUACAO  
PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)  
Matrícula: ###736#0

*(Assinado digitalmente em 22/10/2024 09:23)*

GUILHERME MARCONDES KLAFKE  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.508-##

*(Assinado digitalmente em 22/10/2024 09:25)*

CAIO MÁRCIO DE OLIVEIRA MONTEIRO  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.206-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **4915**, ano: **2024**,  
tipo: **ATA**, data de emissão: **22/10/2024** e o código de verificação: **52e5b8cac7**

## **AGRADECIMENTOS**

“Ninguém constrói nada sozinho”. Por isso, quero agradecer primeiramente a Deus pela oportunidade de viver todos os dias, dias esses que podem ser fáceis ou difíceis, e que servem para me fortalecer e ensinar o valor das mínimas coisas. Também quero agradecer imensamente aos meus pais, por acreditarem em mim e sempre comemorarem cada pequena conquista como se fosse gigante. Aos amigos por estarem comigo nessa jornada, me fazendo crescer de forma pessoal e profissionalmente. Ao meu namorado pelo companheirismo, carinho e apoio de todos os dias. Ao meu orientador pela confiança e por me trazer novos desafios e responsabilidades. Ao LQEPV por ser praticamente minha segunda casa e me possibilitar diariamente a aprender novas coisas. Ao CNPq e à FAPUR, pela bolsa de estudos e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento dessa dissertação.

Ultimamente, os cansaços físico e mental fazem com que as coisas sejam ditas e/ou executadas de forma rápida, por isso o agradecimento foi curto e generalizado, mas quem fez e faz parte da minha vida vai entender que é de toda a sinceridade do mundo (e é por esse motivo que merecem meu agradecimento).

Muito obrigada por tudo!

Eu amo vocês!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## BIOGRAFIA

Brena Gava Guimarães, filha de Graciela Gava e Lair Gonçalves Guimarães, nascida no dia 01 de março de 1994 na cidade de São Gabriel da Palha, Espírito Santo.

Cursou o Ensino Médio no Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) o curso Técnico em Edificações (2009-2012) em Nova Venécia/ES, onde residiu até 2014, quando foi aprovada no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), campus Seropédica.

Durante a graduação, foi bolsista de Apoio Técnico em 2015, atuando na área de Parasitologia Veterinária, no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da UFRRJ, sob orientação do professor Dr. Argemiro Sanavria.

Em 2016, ingressou no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da UFRRJ, através do Programa de Aprendizagem Prática em Parasitologia Animal, onde se tornou bolsista de Iniciação Científica da Fundação de Apoio à Pesquisa da UFRRJ (FAPUR) no mesmo ano.

Em 2017 se tornou bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq e atuou até junho de 2018. Também realizou o Estágio Curricular Supervisionado no LQEPV, concluindo o curso com o trabalho intitulado “Controle de *Ctenocephalides felis felis*: uma breve revisão de literatura”.

Em julho de 2018, graduou-se em Medicina Veterinária e se tornou bolsista de Apoio Técnico pela FAPUR ainda no LQEPV.

Em março de 2019 ingressou no Programa de Residência Multiprofissional na área de Diagnóstico em Parasitologia Animal na UFRRJ, com trabalho de conclusão intitulado “Isoxazolinas e seu uso na Medicina Veterinária – Revisão de Literatura”

Em março de 2021 foi aprovada no processo de seleção do Mestrado Acadêmico para Inovação (MAI/DAI) pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) da UFRRJ, bolsista CNPq.

De 2016 a 2023 sendo orientada pelo professor Dr. Fabio Barbour Scott.

## RESUMO

GUIMARÃES, Brena Gava. **Avaliação da atividade inseticida *in vitro* de óleos essenciais sobre adultos de *Haematobia irritans***. 2023. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Responsável por afetar a atividade pecuária com perdas econômicas em decorrência do seu parasitismo, a mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*, é literalmente irritante para os bovinos, pois suas picadas incessantes interferem no ganho de peso e na qualidade do couro, o que prejudica diretamente a produção de leite e de carne. Esses fatores afetam a saúde e o bem-estar desses animais, sendo indispensável o controle deste ectoparasito, feito por muito tempo de forma indiscriminada com inseticidas sintéticos, causando resistência das moscas a alguns desses fármacos. No intuito de diminuir o uso dessas moléculas sintéticas e assim, reduzir danos aos animais, humanos e ao ambiente, uma alternativa é a utilização de óleos essenciais (OEs) com amplo espectro de ação inseticida, porém, poucos OEs foram testados contra *H. irritans*. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inseticida dos OEs de *Eugenia caryophyllus* (cravo-da-índia), *Cinnamomum cassia* (canela cássia), *Thymus vulgaris* (tomilho branco) e *Illicium verum* (anis estrelado) sobre moscas adultas de *H. irritans*, além de determinar seus valores de concentração letal (CL): CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>. Os OEs foram obtidos comercialmente e seus constituintes foram determinados através de cromatografia gasosa, sendo os majoritários respectivamente: eugenol, (E)-cinamaldeído, timol e ocimeno, e (E)-anetol. Os espécimes oriundos de bovinos naturalmente infestados da área de campo do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) foram expostos a discos de papel filtro (63,62cm<sup>2</sup>) impregnados com diferentes concentrações dos OEs em placas de Petri (90x15mm). As avaliações da mortalidade das moscas foram feitas 2 e 4 horas após a exposição. As concentrações que resultaram em 100% de mortalidade na avaliação de 2h foram de 11,79 e 15,72 µg/cm<sup>2</sup> para *E. caryophyllus*; 39,30 µg/cm<sup>2</sup> para *C. cassia*, 47,15 µg/cm<sup>2</sup> para *T. vulgaris* e 235,77 µg/cm<sup>2</sup> para *I. verum*. E na avaliação de 4h de 15,72 µg/cm<sup>2</sup> para *E. caryophyllus*, 15,72 e 39,30 µg/cm<sup>2</sup> para *C. cassia*, 31,44 e 47,15 µg/cm<sup>2</sup> para *T. vulgaris*, e 157,18 e 235,77 µg/cm<sup>2</sup> para *I. verum*. As CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> foram calculadas estatisticamente por meio da análise Probit pelo programa RStudio Team Software com intervalo de confiança de 95% (p≤0,05). As CL<sub>50</sub> dos óleos em 2 e 4h foram: 5,04 e 5,27 µg/cm<sup>2</sup> para *E. caryophyllus*, 8,57 e 5,03 µg/cm<sup>2</sup> para *C. cassia*, 18,57 e 14,08 µg/cm<sup>2</sup> para *T. vulgaris* e 83,91 e 71,88 µg/cm<sup>2</sup> para *I. verum*. Já as CL<sub>90</sub> em 2 e 4h foram: 11,71 e 10,03 µg/cm<sup>2</sup> para *E. caryophyllus*, 19,26 e 11,22 µg/cm<sup>2</sup> para *C. cassia*, 27,41 e 18,80 µg/cm<sup>2</sup> para *T. vulgaris* e 132,78 e 101,30 µg/cm<sup>2</sup> para *I. verum*. Com exceção da CL<sub>50</sub> do OE de *E. caryophyllus*, todas as CLs após as 4h de exposição reduziram. Apesar disso, o óleo que apresentou melhor resultado foi o OE de *E. caryophyllus*, seguido dos OEs de *C. cassia*, *T. vulgaris* e *I. verum*. Concluiu-se, portanto, que todos os óleos avaliados apresentaram atividade inseticida *in vitro* contra a mosca *H. irritans*.

**Palavras-chave:** mosca-dos-chifres, ectoparasitos de bovinos, produtos naturais

## ABSTRACT

GUIMARÃES, Brena Gava. **Evaluation of insecticidal *in vitro* activity of essential oils against *Haematobia irritans* adults**. 2023. 58p. Dissertation (Master Science in Veterinary Sciences) - Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Responsible for affecting livestock activity with economic losses due to its parasitism, the horn fly, *Haematobia irritans*, is literally annoying to cattle, because the incessant bites interfere on weight gain and leather quality, which directly harms the milk and meat production. These factors affect health and welfare of these animals, and the control of this ectoparasite is indispensable, done for a long time indiscriminately with synthetic insecticides, causing flies' resistance to some of these drugs. To reduce the use of these synthetic molecules and then reduce damage to animals, humans and the environment, an alternative is essential oils (EOs) with a large spectrum of insecticidal action, however, few EOs have been tested against *H. irritans*. Therefore, the objective of this work was to evaluate the insecticidal activity of *Eugenia caryophyllus* (clove), *Cinnamomum cassia* (cassia cinnamon), *Thymus vulgaris* (white thyme) and *Illicium verum* (star anise) EOs on adult flies of *H. irritans*, and to determinate its lethal concentration (LC) values: LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>. The EOs were obtained commercially, and their constituents were determined through gas chromatography. The major ones being respectively: eugenol, (E)-cinnamaldehyde, thymol and ocymene, and (E)-anethole. The specimens from naturally infested cattle from the field area of the Laboratory of Experimental Chemotherapy in Veterinary Parasitology (LQEPV) at the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) were exposed to filter paper discs (63.62cm<sup>2</sup>) impregnated with different concentrations of the EOs in Petri dishes (90x15mm). The evaluation of mortality was made 2 and 4 hours after exposure. The concentrations that showed 100% of mortality at the 2h evaluation were 11.79 and 15.72 µg/cm<sup>2</sup> for *E. caryophyllus*, 39.30 µg/cm<sup>2</sup> for *C. cassia*, 47.15 µg/cm<sup>2</sup> for *T. vulgaris* and 235.77 µg/cm<sup>2</sup> for *I. verum*. And at the 4h evaluation of 15.72 µg/cm<sup>2</sup> for *E. caryophyllus*, 15.72 and 39.30 µg/cm<sup>2</sup> for *C. cassia*, 31.44 and 47.15 µg/cm<sup>2</sup> for *T. vulgaris*, and 157.18 and 235.77 µg/cm<sup>2</sup> for *I. verum*. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> were statistically calculated using Probit analysis using the RStudio Team Software program with a 95% confidence interval (p≤0.05). The LC<sub>50</sub> of the EOs at 2 and 4h were: 5.04 and 5.27 µg/cm<sup>2</sup> for *E. caryophyllus*, 8.57 and 5.03 µg/cm<sup>2</sup> for *C. cassia*, 18.57 and 14.08 µg/cm<sup>2</sup> for *T. vulgaris* and 83.91 and 71.88 µg/cm<sup>2</sup> for *I. verum*. The LC<sub>90</sub> at 2 and 4h were: 11.71 and 10.03 µg/cm<sup>2</sup> for *E. caryophyllus*, 19.26 and 11.22 µg/cm<sup>2</sup> for *C. cassia*, 27.41 and 18.80 µg/cm<sup>2</sup> for *T. vulgaris* and 132.78 and 101.30 µg/cm<sup>2</sup> for *I. verum*. Except LC<sub>50</sub> of *E. caryophyllus* EO, all LCs after 4h of exposure reduced. Despite this, the oil that showed better results was *E. caryophyllus*, followed by *C. cassia*, *T. vulgaris* and *I. verum*. Concluding that all evaluated oils showed *in vitro* insecticidal activity against the horn fly.

**Keywords:** horn fly, cattle ectoparasites; natural products



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Cultivo de *Eugenia caryophyllus* (cravo-da-índia). Fonte: Ferquima. 15
- Figura 2** – Cultivo de *Cinnamomum cassia* (canela cássia). Fonte: Ferquima. 16
- Figura 3** – Cultivo de *Thymus vulgaris* (tomilho branco). Fonte: Ferquima. 17
- Figura 4** – Cultivo de *Illicium verum* (anis estrelado). Fonte: Ferquima. 18
- Figura 5** – Captura dos espécimes adultos de em bovinos naturalmente infestados oriundos da Fazenda Experimental do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Fonte: Arquivo pessoal (2022). 20
- Figura 6** – Gaiolas de polipropileno (24x35x24cm) adaptadas com abertura em um dos lados, fechada com tecido de elastano contendo os espécimes adultos de *Haematobia irritans* coletados diretamente dos bovinos. Fonte: Arquivo pessoal (2022). 21
- Figura 7** – Placa de Petri (90x15mm) com disco de papel filtro previamente impregnado vedada lateralmente com fita adesiva transparente. Após a inserção das moscas, o orifício central foi vedado com fita de papel crepado. Fonte: Arquivo pessoal (2022). 24
- Figura 8** – Comparação do percentual de mortalidade dos adultos de *Haematobia irritans* em ambos os tempos de avaliação (2 e 4h) para os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus* (A); *Cinnamomum cassia* (B); *Thymus vulgaris* (C) e *Illicium verum* (D). 30

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Concentrações utilizadas nos testes para os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* antes e depois da impregnação dos discos de papel filtro. 23
- Tabela 2** – Concentrações utilizadas nos testes para os ativos do controle positivo Fipronil e Cipermetrina antes e depois da impregnação dos discos de papel filtro. 23
- Tabela 3** – Resultado da composição química dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum*. (continua) 25
- Tabela 3** – Continuação 34
- Tabela 4** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas aos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* após duas horas da realização do ensaio. 27
- Tabela 5** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas aos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* após quatro horas da realização do ensaio. 28
- Tabela 6** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas ao Fipronil (controle positivo) após duas e quatro horas da realização do ensaio. 28
- Tabela 7** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas à Cipermetrina (controle positivo) após duas e quatro horas da realização do ensaio. 29
- Tabela 8** – Valores das concentrações letais (CL) CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> em µg/cm<sup>2</sup>, slope, coeficiente de regressão, qui-quadrado e p-valor do fipronil e dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum*. 32

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1 Classificação Taxonômica	3
2.2 Morfologia	3
2.3 Histórico	3
2.4 Biologia	4
2.5 Epidemiologia	5
2.6 Importância Econômica e Médico-veterinária	6
2.7 Controle de <i>Haematobia irritans</i>	7
2.7.1 Resistência aos inseticidas	10
2.8 Uso de Química Verde	12
2.8.1 Óleos essenciais	12
2.8.2 Óleos essenciais utilizados no controle de <i>Haematobia irritans</i>	14
2.8.3 <i>Eugenia caryophyllus</i>	15
2.8.4 <i>Cinnamomum cassia</i>	16
2.8.5 <i>Thymus vulgaris</i>	16
2.8.6 <i>Illicium verum</i>	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>19</b>
3.1 Localização do Ensaio	19
3.2 Animais	19
3.3 Captura e Acondicionamento das Moscas	19
3.4 Origem dos Óleos Essenciais	21
3.5 Caracterização Química dos Óleos Essenciais	22
3.6 Preparo das Soluções	22
3.7 Ensaio <i>in vitro</i>	23
3.8 Análise Estatística	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>25</b>
4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais	25
4.2 Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais	27
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>36</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>37</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>58</b>
Anexo A – Comprovante de submissão de proposta à Comissão de Ética no Uso de Animais	58

# 1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é o segundo maior do mundo e de acordo com o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021) existem em torno de 224,6 milhões de cabeças de gado. O Brasil também é o segundo maior produtor e o maior exportador mundial de carne bovina, de acordo com os dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (BUCHHOLZ, 2021).

A criação de bovinos é uma das atividades econômicas mais importantes do país e seu crescimento contínuo é consequência de um maior investimento no setor primário da indústria, com um número cada vez maior de bovinos nos rebanhos e maiores gastos em suprimentos. Ao passo que o rebanho bovino brasileiro cresce, é necessário reforçar permanentemente os investimentos em programas sanitários eficientes para garantir a saúde dos rebanhos, com melhoria da eficiência produtiva aliada ao controle e erradicação dos principais problemas encontrados, o que ajuda a diminuir custos de produção aumentando a competitividade entre os mercados consumidores. Os cuidados para o controle de seus ectoparasitos também devem aumentar, já que estes trazem consequências para os animais, como perda de peso corporal, danos ao couro, transmissão de agentes patogênicos e/ou lesões que permitem infestações ou infecções secundárias, e causam impacto negativo para atividade pecuária.

A mosca *Haematobia irritans*, conhecida popularmente como mosca-dos-chifres, é um dos mais importantes ectoparasitos de bovinos no Brasil, e encontra condições favoráveis para o seu desenvolvimento na maior parte do país, onde o ciclo pode se completar entre 7 e 12 dias no período chuvoso e pode apresentar até 30 gerações anuais. Quando isso ocorre, e não existe um manejo de controle, as infestações podem chegar de 5 a 10 mil moscas por hospedeiro, comprometendo assim a produção de leite e carne, além da atividade reprodutiva no caso dos touros.

A crescente utilização de cruzamentos entre zebuínos e taurinos com o intuito de melhorar a produção de carne também traz certa complicação, pois aumenta a suscetibilidade dos bovinos em relação às infestações por *H. irritans*. Esse fato eleva ainda mais o custo da produção, afetando diretamente a produtividade da pecuária brasileira, com perdas em decorrência das infestações estimadas em aproximadamente 2,56 bilhões de dólares por ano (GRISI *et al.*, 2014).

O método de controle químico é tradicionalmente o mais empregado dentre os métodos de controle existentes para as moscas-dos-chifres, em que os fármacos das classes dos piretroides e organofosforados foram bastante utilizados durante décadas, além de outras bases químicas como as lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis e os reguladores de crescimento de insetos. O uso de forma errônea e muitas vezes de maneira indiscriminada, resulta na seleção de moscas resistentes a esses compostos. Hoje no Brasil existem relatos de resistência aos piretroides em diversos estados, e pode ocorrer o desenvolvimento de resistência a outras classes que sejam utilizadas de forma descontrolada.

Por isso, uma alternativa potencial aos inseticidas convencionais é a utilização de derivados de plantas com propriedades ectoparasiticidas, a fim de reduzir os impactos ambientais e financeiros no uso de produtos sintéticos.

Espera-se que os óleos essenciais (OEs) de plantas aromáticas e medicinais possam substituir a utilização de produtos sintéticos, ou então, permitir uma menor utilização deles, através de associações ou rodízios (usando uma menor concentração de produtos sintéticos), como uma ferramenta de auxílio para reduzir a velocidade do

desenvolvimento de resistência, os resíduos nos produtos de origem animal e a toxicidade para animais e humanos, além de minimizar o impacto na degradação ambiental.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida *in vitro* de diferentes concentrações dos OEs de *Eugenia caryophyllus* (cravo-da-índia), *Cinnamomum cassia* (canela cássia), *Thymus vulgaris* (tomilho branco) e *Illicium verum* (anis estrelado) e determinar suas respectivas concentrações letais (CL) CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> sobre adultos de *H. irritans*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Classificação Taxonômica

*Haematobia irritans* pertence ao Filo Arthropoda e à Classe Insecta, dentro da Ordem Diptera e da Infraordem Muscomorpha. Se encontra na Divisão Schizophora juntamente com as outras moscas de importância médico-veterinária. É membro da Seção Caliptratae, pertencendo à família Muscidae e à subfamília Stomoxydinae (Tribo Stomoxyini) (MONTEIRO, 2017).

O gênero *Haematobia* possui além da espécie *H. irritans*, disseminada pela Europa, Américas e Austrália, mais duas espécies: uma encontrada somente na Europa, *H. stimulans* e uma na África, *H. minuta* (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; TAYLOR *et al.*, 2017; MONTEIRO, 2017).

A espécie *H. irritans* possui duas subespécies: a mosca-dos-búfalos, *H. irritans exigua*, encontrada na Ásia e Austrália, e a mosca-dos-chifres, *H. irritans irritans*, mais importante economicamente e com maior distribuição mundial (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; TAYLOR *et al.*, 2017).

### 2.2 Morfologia

As moscas da espécie *H. irritans* possuem corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen, três pares de patas, e são aladas com um par de asas membranosas e um par halteres ou balancins para auxiliar no equilíbrio durante o voo (URQUHART *et al.*, 1998). Os adultos apresentam aparelho bucal do tipo picador-sugador, com machos e fêmeas hematófagos (URQUHART *et al.*, 1998; MONTEIRO, 2017).

Externamente, são semelhantes aos adultos de *Stomoxys calcitrans*, a mosca-dos-estábulos, porém de tamanho menor, com 3 a 5 mm de comprimento (SERRA-FREIRE; MELLO, 2006; TAYLOR *et al.*, 2017). O que as diferencia, principalmente, são os palpos, enquanto *S. calcitrans* possui palpos curtos, *H. irritans* possui palpos quase do tamanho da probóscida com dilatação em suas extremidades (MONTEIRO, 2017; TAYLOR *et al.*, 2017).

Possuem coloração castanha (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990) com quatro listras escuras no tórax e asa com primeira nervura mediana curvada para a margem anterior; suas antenas possuem três segmentos (pedicelo, escapo e flagelo), tendo o último aristas pectinadas (MONTEIRO, 2017; TAYLOR *et al.*, 2017).

Os olhos compostos têm uma fileira de cerdas em cada lado da linha média, e o vértice que separa os olhos das fêmeas (dicópticas) é mais espaçado que o dos olhos dos machos (holópticos) (MCLINTOCK; DEPNER, 1954).

Os ovos têm de 1 a 1,5 mm de comprimento e possuem coloração marrom-escura. As larvas são cilíndricas (vermiformes) com cabeças pontiagudas, coloração branco-amarelada, apresentam ganchos na extremidade anterior e na extremidade posterior estigmas respiratórios, com uma, duas ou três aberturas de acordo com a fase larval L1, L2, L3, respectivamente, e à medida que mudam de instar também aumentam de comprimento de 1,5 até 7 mm. As pupas têm formato de barril e são foscas, de coloração castanho-avermelhada, com 3 a 4 mm de comprimento (BRUCE, 1964; TAYLOR *et al.*, 2017; MONTEIRO, 2017).

### 2.3 Histórico

A mosca-do-chifre foi reconhecida como uma praga na França em 1830. Do sul da França, foi introduzida acidentalmente nos Estados Unidos entre 1884 e 1886 com as

exportações dos bovinos (FLETCHER, 1892; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). No Canadá foi relatada em 1892, oriunda de bovinos exportados dos Estados Unidos (FLETCHER, 1892).

Com a expansão americana para o oeste, em 1897 se espalhou para Honolulu, capital do Havaí, e em 1898 já havia ocupado todas as ilhas do grupo havaiano, em razão do clima propício para o seu desenvolvimento, se tornou mais prejudicial nessas ilhas no meio do Pacífico do que nos Estados Unidos (MARLATT, 1910).

Foi identificada nas ilhas do Caribe, América Central e América do Sul, possivelmente de moscas originárias dos Estados Unidos. Na América do Sul foi reconhecida e introduzida na Colômbia e na Venezuela em 1937 (FIASSON, 1943; ZUMPT, 1973; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990), e em 1967 foi encontrada no Chile (GONZALEZ, 1968).

No Brasil, a Delegacia Federal de Agricultura de Roraima relatou o primeiro registro entre 1976 e 1977, provavelmente oriunda da Guiana, e não da Venezuela como suspeitavam (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). Em 1980, técnicos do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) identificaram esses espécimes como *H. irritans* (VALÉRIO; GUIMARÃES, 1983). E a partir do estado de Roraima a mosca-do-chifre se disseminou rapidamente devido às condições climáticas da região (BRITO *et al.*, 2005).

Em 1984, alcançou e cruzou o Rio Amazonas chegando ao Pará. Em 1987, sua presença foi registrada no Maranhão, e em 1988 no Piauí e no Ceará. Seguiu para Tocantins, Acre e Goiás em 1989, e alcançou Minas Gerais, Rondônia, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, em 1990 (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). Em 1991 chegou ao estado do Paraná (FARIA, 1998), e começou a ocupar a maioria dos estados brasileiros. Desde então, encontra-se em todo o território nacional e países da América do Sul (BIANCHIN; ALVES, 2002).

## 2.4 Biologia

O ciclo biológico de *H. irritans* é semelhante ao de outros muscídeos, sendo muito rápido quando em condições favoráveis de temperatura e umidade (BRITO *et al.*, 2005). São insetos com ciclo holometabólico, ou seja, com metamorfose completa em que os estágios larvais e adultos são ativos e os estágios de ovo e pupa inativos (BREWER *et al.*, 2021).

Apesar de possuírem preferência por sangue bovino, podem parasitar equinos (FLETCHER, 1892; PRIETO *et al.*, 1994), bubalinos e caprinos em pastagens adjacentes, porém, a manutenção da espécie só ocorre se a oviposição for feita em esterco bovino fresco (FOIL; HOGSETTE, 1994). Raramente ataca cães, ovinos e o homem (BIANCHIN; ALVES, 2002).

O período chuvoso é o mais propício para o desenvolvimento da mosca-dos-chifres, porém, períodos de chuva intensa (próximo de 100mm ou mais) reduzem a população de moscas adultas e de formas imaturas, já que as massas fecais frescas depositadas na pastagem são facilmente desfeitas pela ação da chuva (BIANCHIN; ALVES, 1997; 2002; MACEDO; BRITO; BORJA, 2001). Consequentemente, o ciclo evolutivo da mosca é interrompido.

As larvas eclodem rapidamente se a umidade for suficientemente alta e com temperatura ótima de eclosão (MCLINTOCK; DEPNER, 1954). Os exemplares de primeiro instar penetram imediatamente no esterco, se protegendo dos raios solares (BRITO *et al.*, 2005) e se desenvolvem em larvas de segundo e terceiro instar em períodos curtos, entre 3 e 5 dias, quando a umidade é adequada e a temperatura encontra-se por volta de 27°C (BREWER *et al.*, 2021).

À medida que ocorre a dessecação do esterco, as larvas migram para as partes ainda úmidas no interior do bolo fecal (BRUCE, 1964). O teor de umidade ideal do esterco para o desenvolvimento larval está entre 84 e 90% (KURAMOCHI, 2000). As larvas de terceiro instar iniciam a fase de pupa dentro da camada de esterco ou no solo imediatamente abaixo (LANCASTER; MEISCH, 1986; TAYLOR, 2017).

Em caso de solos excessivamente secos, as pupas podem ser observadas no meio do bolo fecal, porém se as fezes estiverem mais secas que o solo, as pupas serão encontradas enterradas no solo, até 3,8 cm de profundidade (BRUCE, 1964).

Em temperaturas baixas e clima seco os ovos não são eclodidos e o desenvolvimento larval é retardado, porém o estágio de pupa sobrevive, com emergência de adultos na primavera seguinte (TAYLOR *et al.*, 2017). Esse mecanismo é conhecido como diapausa, e no Brasil possui mais importância na região sul (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990).

O período de pupação dura de 5 a 6 dias, e após a emergência, os adultos apresentam coloração escura e movimentos lentos, permanecendo por aproximadamente uma hora sobre a superfície das fezes ou da vegetação, com as asas estendidas e de cabeça para baixo por causa do geotropismo positivo, e só a partir disso saem em busca do hospedeiro (BRUCE, 1964; BORDIN, 1992; BRITO, 2005).

A cópula pode ser realizada a partir do segundo dia de vida, nas partes mais altas do corpo do hospedeiro (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990) ou na vegetação ao redor dele (LANCASTER; MEISCH, 1986). A postura dos ovos ocorre a partir do terceiro dia de vida das fêmeas, e que depois de fecundadas, se deslocam para as partes mais baixas do hospedeiro, no aguardo da defecação (LANCASTER; MEISCH, 1986; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990).

A postura pode ocorrer durante o dia ou à noite (SANDERS; DOBSON, 1969; KUNZ *et al.*, 1970), e os ovos são depositados agrupados embaixo da borda fecal (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). Cada fêmea pode realizar cerca de 15 posturas durante sua vida, que dura em média de três a cinco semanas, e dependendo das condições locais a produção total de ovos varia entre 80 e 300 (KRAFSUR; ERNEST, 1983; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990; BORDIN, 1992; WISLOW, 1992).

As fêmeas se alimentam do hospedeiro de forma mais frequente que os machos, já que necessitam de mais sangue para a produção dos ovos, podendo picar até 40 vezes por dia para uma média diária de 25 vezes dos machos (HARRIS; MILLER; FRAZAR, 1974).

## 2.5 Epidemiologia

A dinâmica populacional da mosca-dos-chifres é influenciada pelas condições climáticas locais. Em tese, a presença ou ausência da mosca é determinada pela temperatura, enquanto sua abundância é determinada por chuvas e umidade (GORDON; HAUFE; KLEIN, 1984).

A raça, a cor da pelagem, o sexo e a idade também influenciam na carga parasitária dos animais. Foi observado por Bianchin, Koller e Detmann (2006) que animais de raças europeias (*Bos taurus*) puros ou cruzados com a raça Nelore (*B. indicus*) possuíam maior carga parasitária de *H. irritans* do que os animais com predominância de sangue Nelore, ou seja, animais taurinos são mais susceptíveis a infestações que animais zebuínos.

Quando o número de moscas é relativamente baixo (FRANKS; BURNS; ENGLAND, 1964), uma preferência é demonstrada por animais de cor escura ou por manchas escuras nos animais (FRANKS; BURNS; ENGLAND, 1964; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). Quanto mais escura a pele, mais calor é absorvido e mais



as moscas são atraídas, até chegar um ponto em que procuram um local mais adequado (MORGAN, 1964).

A preferência das moscas por machos inteiros está relacionada ao tamanho das glândulas sebáceas que possuem maior atividade, assim como a concentração de testosterona (CHRISTENSEN; DOBSON, 1979).

Em relação ao fator idade, Bianchin e Alves (1997; 2002) observaram que os bezerros e animais mais jovens quase não possuíam moscas sobre o corpo em relação aos animais adultos, o que indica uma certa predileção das moscas por esses animais.

Foram chamadas de moscas-dos-chifres pelo comportamento preferencial de se aglomerarem na base dos chifres dos bovinos, em climas temperados ou em manhãs muito frias. No Brasil, esse fenômeno é observado raramente na região sul (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990). Normalmente, se concentram no dorso e nas laterais do animal (cupim, paleta, costas, barriga e pernas), pois são partes que ficam fora do alcance do movimento da cabeça e da cauda (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990; BIANCHIN; ALVES, 2002), o que torna o parasitismo mais fácil, porém sua localização pode variar de acordo com o macro e o microambiente (MORGAN, 1964).

Em dias chuvosos, as moscas se localizam na região ventral do bovino, por encontrarem abrigo das chuvas e temperatura favorável (MORGAN, 1964; LIMA; PRADO; PERRI, 2002). E em dias muito quentes, quando o céu está claro e a temperatura acima de 32°C, a temperatura da pele do gado holandês pode variar de 35°C em uma mancha preta na sombra ou na parte branca da barriga, a até 46°C em uma mancha preta ao longo da coluna fora da sombra, por isso as moscas normalmente encontram-se na pele branca da barriga, especialmente perto do umbigo e entre o úbere e as patas traseiras, onde a temperatura é menor (MORGAN, 1964).

Outro fator que contribui para a ampla distribuição das moscas-dos-chifres é a capacidade de se dispersar por grandes distâncias, sendo capaz de migrar entre rebanhos com distância de 6 a 8 km, e barreiras físicas, como árvores, não impedem a migração para novos rebanhos (KUNZ; KINZER; MILLER, 1983; BYFORD *et al.*, 1987).

## **2.6 Importância Econômica e Médico-veterinária**

Historicamente, a mosca-dos-chifres é considerada um dos ectoparasitos mais importantes de bovinos que são economicamente prejudiciais, com perdas estimadas em aproximadamente 2,56 bilhões de dólares por ano. E além dos prejuízos econômicos, essa espécie também traz prejuízos aos animais infestados (GRISI *et al.*, 2014).

Alguns autores afirmam que ao sentirem as picadas das moscas, os bovinos ficam irritados e utilizam bastante energia para se debater, com isso, o tempo dedicado à alimentação é reduzido, o que interfere na digestão e assimilação de nutrientes, consequentemente reduz o ganho de peso e afeta na produção de leite e carne (BYFORD; CRAIG; CROSBY, 1992; CRUZ-VÁSQUEZ *et al.*, 2000).

Burns *et al.* (1975) definiram 200 moscas por bovino como limiar econômico acarretando uma perda de 16kg de peso vivo/animal/ano. Steelman *et al.* (1991) estimaram que para cada 100 moscas infestando um animal era esperada uma diminuição anual de aproximadamente 8kg no ganho de peso vivo. Já Honer e Gomes (1990) calcularam que em uma infestação de 500 moscas constantemente presentes, o animal perderia 40kg de peso vivo no ano, sendo a perda de peso relacionada à ação irritante da mosca.

Já em relação à produção de leite, estudos estimam que infestações de 200 moscas por vaca reduz a produção de leite em 500mL/dia/vaca (JONSSON; MAYER, 1999), e outros estudos estimam que vacas sob o estresse da infestação têm a produção de leite

reduzida em 4 a 12% dependendo do nível de infestação (GUGLIELMONE *et al.*, 1998; VELASCO *et al.*, 2001).

Sanchez-Sandoval *et al.* (2022) apesar de concordarem com os demais autores, que os comportamentos defensivos em bovinos infestados são maiores, concluíram que a assimilação de nutrientes não difere entre bovinos infestados e não infestados, com aumento apenas da concentração de ácidos graxos voláteis nos animais parasitados. E provavelmente alguns animais suportem mais as infestações do que outros e não apresentem prejuízos tão relevantes (BIANCHIN *et al.*, 2004).

O grande número de picadas diariamente afeta o couro por causa da reação da pele do animal, o qual se torna grosso e inflexível, de baixa qualidade, e consequentemente reduz seu valor comercial (HONER; GOMES, 1990; HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990), porém Silva *et al.* (2002) avaliaram que embora a mosca cause lesões macroscópicas na pele, as perdas para a indústria não são tão consideráveis, visto que essas lesões são revertidas após o processo de curtimento do couro.

A picada pode causar dermatite e a lesão dar acesso a miíases secundárias e outros patógenos transmitidos pela mosca, como *Stephanofilaria stilesi*, nematódeo parasito da pele de bovinos, causando uma dermatite chamada estefanofilariose, caracterizada por áreas de crostas ao longo da linha mediana do corpo do animal (HIBLER, 1966; GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001), além de poder carrear ovos da mosca-do-berne, *Dermatobia hominis* (LEITE *et al.*, 1998).

A mosca-dos-chifres também é capaz de transmitir *Staphylococcus* spp., bactéria causadora de mastite ou infecção nos tetos de vacas leiteiras, particularmente no verão (OWENS *et al.*, 1998, GILLESPIE *et al.*, 1999), também pode introduzir a bactéria em feridas abertas, causando infecção significativa (EDWARDS *et al.*, 2000).

Ainda pode causar dermatite ulcerativa periorbital ou ventral em cavalos, e essa lesão, por consequência, pode ser infectada pelo nematódeo *Habronema* spp., causando habronemose cutânea (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001), além do mais, o cavalo possui uma pele mais fina e é muito sensível às picadas desta mosca, o que o deixaria incontrolável se fosse atacado (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990).

## 2.7 Controle de *Haematobia irritans*

As medidas adotadas pela população logo após o surgimento da *H. irritans* nos Estados Unidos se baseavam na repelência tóxica através de alcatrão, ácido carbólico, graxa e óleos de peixe, além de ação tóxica como emulsões de querosene ou tabaco e creosoto em pó. Ainda contavam com o tratamento do esterco com cal ou através de dessecação (DRUMMOND; GEORGE; KUNZ, 1988).

Na década de 30 começou a ser arquitetada uma armadilha para o controle de moscas-dos-chifres (BRUCE, 1938), porém poucas pessoas pensavam em controlá-las devido a 2ª Guerra Mundial. No entanto, quando houve a necessidade, na década de 40, os pesticidas como diclorodifeniltricloroetano (DDT) foram mais atraentes, já que já eram utilizados durante esse período no combate e prevenção de tifo em soldados, que o utilizavam na pele por causa de piolhos e mosquitos (MARICONI, 1988; HALL, 1996; D'AMATO; TORRES; MALM, 2002).

O DDT faz parte do grupo dos organoclorados que atuam sobre o sistema nervoso central do inseto, e resulta em alterações de comportamento e equilíbrio, distúrbios sensoriais, atividade involuntária da musculatura e depressão dos centros vitais, particularmente da respiração. Apesar de atravessar facilmente o exoesqueleto quitinoso do inseto, ele é pouco absorvido pela pele humana, porém pode haver intoxicação através de inalação ou ingestão de alimentos contaminados (BRASIL, 1997).

No início da década de 60 os organofosforados também começaram a ser utilizados para o controle da mosca-dos-chifres. Eles atuam interferindo no sistema nervoso ao inativarem a enzima acetilcolinesterase (AChE), que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina, provocando hiperatividade nervosa e consequente colapso do sistema nervoso (ELDEFRAWI *et al.*, 1982; MASON *et al.*, 1984; MUTERO *et al.*, 1994). Os organofosforados mais conhecidos e utilizados no controle de parasitos são diazinon, fenthion, clorpirifós, diclorvós (TAYLOR, 2001).

Os piretroides foram introduzidos no mercado ao final da década de 70 e interrompem as transmissões de impulsos nervosos normais em insetos, especificamente por interferir no fechamento de uma porção dos canais de sódio que induz alterações na permeabilidade da membrana axônica, causando um quadro de hiperexcitabilidade, sendo eles cipermetrina, alfa-cipermetrina, flumetrina, ciflutrina, deltametrina, fenvalerato e permetrina (LUND; NARAHASHI, 1982).

Foram utilizados pela primeira vez no início da década de 80 em brincos impregnados com uma abordagem eficaz para o controle das moscas-dos-chifres, sendo amplamente aceito entre os produtores de gado em toda América do Norte (WILLIAMS; WESTBY, 1980). Porém, o uso indiscriminado juntamente com a contínua pressão de seleção da espécie causaram resistência da mosca-dos-chifres a essa classe de inseticidas (SHEPPARD, 1984; DRUMMOND; GEORGE; KUNZ, 1988).

Os produtores de gado insatisfeitos com o desempenho dos brincos impregnados solicitaram informações sobre métodos alternativos de controle (HALL, 1996). Os entomologistas com recursos limitados, recomendaram que as velhas práticas de controle voltassem a ser utilizadas (CAMPBELL *et al.*, 2006). Assim, a armadilha planejada anteriormente voltou a ser reavaliada (HALL, 1996).

A armadilha consiste em um sistema de passagem, em que o gado percorre um corredor escuro contendo vários meios que possam eliminar as moscas de seu corpo (HALL, 1996), como por exemplo um estudo realizado por Miraballes *et al* (2017) onde avaliaram a redução da população de moscas em vacas leiteiras passando por uma armadilha contendo compartimentos separados por cortinas horizontais e verticais feitas com tiras de borracha.

Por outro lado, empresas mudaram a composição dos brincos inicialmente feitos com piretroides, para organofosforados ou associação entre eles, com adição de piretroides mais tóxicos (CAMPBELL *et al.*, 2006) ou ainda, o uso de sinergistas, como o butóxido de piperonila, composto orgânico amplamente utilizado na agricultura para o controle de pragas agrícolas resistentes aos piretroides, pois reduz a metabolização destas drogas pelo inseto e aumenta sua suscetibilidade (BECKEL; LORINI; LAZZARI, 2006). Desde então, novas classes começaram a ser introduzidas no mercado, entre elas as lactonas macrocíclicas e os fenilpirazóis (BARROS, 2004).

As lactonas macrocíclicas potencializam a ação inibidora neuronal mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) por interagirem com seus receptores, isso promove uma hiperpolarização do neurônio e inibe a transmissão nervosa (SARTOR; BICUDO, 1999), no entanto, essas moléculas possuem maior afinidade com os receptores dos canais de cloreto controlados por glutamato, aumentando a condutância da membrana, paralisando a musculatura somática do inseto (DANAHER *et al.*, 2006).

São conhecidas como endectocidas, pois são capazes de matar tanto endo como ectoparasitos, e além de serem eficazes contra a mosca adulta por até quatro semanas e poder afetar sua fecundidade durante o processo (MILLER *et al.*, 1986; UZUKA *et al.*, 1999), também interferem nos estágios imaturos presentes nas fezes já que as lactonas saem inalteradas nelas (MILLER *et al.*, 1981; MILLER; OEHLER; SCHOLL, 1994; SCHMIDT, 1983; FINCHER, 1992). A excreção desses compostos no leite é uma

desvantagem importante para seu uso em animais produtores de leite, com exceção da eprinomectina (SHOOP *et al.*, 1996).

Da classe dos fenilpirazóis, o inseticida que mais se destaca é o fipronil, que possui amplo espectro de ação e alta efetividade contra gafanhotos, mosquitos, pulgas e carrapatos tanto nos estágios larvais quanto no estágio adulto (TINGLE *et al.*, 2000; RAVETON *et al.*, 2007). Ele bloqueia a transmissão de sinal através da inibição do canal de cloreto controlado pelo GABA, inibindo o fluxo dos íons cloro para o interior da célula nervosa, o que resulta na excitação excessiva do sistema nervoso, paralisia grave e morte do inseto (RAUH; LUMMIS; SATTELLE, 1990; BOBÉ *et al.*, 1998; AAJOD; RAVANEL; TISSUT, 2003).

Outras drogas também foram incorporadas ao esquema de controle químico, como os reguladores de crescimento de insetos (IGRs), pertencentes à terceira geração de inseticidas, que, diferente dos convencionais, não matam os parasitos imediatamente, mas interferem em seu desenvolvimento, com ação principalmente nos estágios imaturos, provocando alterações que podem até resultar na completa inibição da emergência de adultos (CHAMBERLAIN, 1975; GRAF *et al.*, 2004).

Eles são agrupados de acordo com seu mecanismo de ação, em análogos do hormônio juvenil, inibidores da síntese de quitina e inibidores da deposição de quitina, e por isso que em comparação com inseticidas convencionais precisam de mais tempo para reduzir a população de insetos (GRAF, 1993). Dessa forma, não são os mais adequados para serem utilizados isolados se existe uma necessidade de controle rápido da população estabelecida, necessitando de uma associação com adulticidas para alcançar um efeito mais rápido (GRAF, 1993; TAYLOR, 2001), mas pode ser utilizado de forma preventiva quando se conhece a dinâmica populacional do parasito (TAYLOR, 2001).

Para o controle de estágios imaturos de *H. irritans* foram utilizados, por via oral, o metoprene (MILLER *et al.*, 1977) e piriproxifen (análogos do hormônio juvenil) (OLIVEIRA *et al.*, 2021), e o diflubenzuron (inibidor da síntese de quitina) (DELL'PORTO *et al.*, 2012). Por serem drogas muito específica para dípteras, não afetam o crescimento de insetos úteis para a desintegração e incorporação do bolo fecal ao solo (WILLIAMS, 1991).

Além do controle químico, descrito anteriormente, utilizado sob a forma de imersão, pulverização, “pour-on” e “spot-on”, polvilhamento, mecanismos autodosadores (dispositivos confeccionados para que os animais se tratem sozinhos) e brincos impregnados, outras formas de controle também podem ser utilizadas, para combater as moscas-dos-chifres (ALVES-BRANCO; PINHEIRO; SAPPER, 2000). Houve um aprimoramento da armadilha do sistema de passagem, para controle mecânico, mencionado acima, em que foram colocadas armadilhas pegajosas ou de eletrocussão pelo caminho, sendo mais eficazes para reduzir populações de moscas adultas (WATSON *et al.*, 2002). Já para diminuir a sobrevivência das larvas (consequentemente dos adultos) se utiliza a destruição da integridade dos esterco, para controlar melhor a infestação no gado confinado. Em algumas pastagens, o alagamento do pasto também é uma forma de inibir o ciclo (FOIL; HOGSETTE, 1994).

A integridade dos esterco também pode ser desfeita, por controle biológico, através de um besouro africano coprófago da espécie *Digitonthophagus gazella*, conhecido como rola-bosta, que foi introduzido no Brasil em 1989 pelo CNPGC/EMBRAPA (BIANCHIN; HONER; GOMES, 1992) para compor o programa de controle integrado da mosca-dos-chifres, que consiste em combater a mosca em sua fase mais crítica do ciclo biológico (fases não-parasitárias nas fezes) e na época mais desfavorável ao seu desenvolvimento (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990).

Em uma propriedade, para dar início ao controle da mosca-dos-chifres deve-se avaliar o grau de parasitismo dos animais, o que vai direcionar a melhor estratégia. Barros (1992; 1995) e Melo (2018) descrevem que para o controle estratégico deve se conhecer a dinâmica populacional da mosca-dos-chifres, em que os tratamentos são direcionados para épocas pré-estabelecidas em que a mosca possui maior abundância na propriedade. Já o controle tático, para Barros (1992; 1995), deve ser feito em animais com infestações médias de 200 moscas por animal (limiar econômico), independente da época do ano, diferente do preconizado por Honer, Bianchin e Gomes (1990), em que o tratamento é feito em épocas chuvosas.

Nesse caso, o programa de controle integrado considera os aspectos do controle estratégico, além da utilização do besouro rola-bosta para controlar as larvas nas fezes, atuando tanto nas fases parasitárias como nas não-parasitárias (BIANCHIN; HONER; GOMES, 1992).

Outras formas de controle biológicos são fungos entomopatogênicos como *Isaria fumosorosea*, *I. farinosa*, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (MOCHI *et al.*, 2010a, 2010b). O desenvolvimento de uma vacina feita com proteína salivar de *H. irritans* também vem sendo estudado como uma forma de controle, com efeitos promissores em relação à redução de sua carga parasitária (CUPP *et al.*, 2004; BREJO *et al.*, 2017).

### **2.7.1 Resistência aos inseticidas**

O método de controle químico já demonstrou ser ineficaz em praticamente todo campo da sanidade animal (HONER; GOMES, 1990). Seu uso indiscriminado mesmo que em conjunto com outras estratégias de controle traz consequências negativas, como o aumento dos custos de produção (BARROS *et al.*, 2012), contaminação do solo e da água por causa da alta persistência no ambiente, resíduos na carne e no leite, intoxicação em pessoas e animais, além de selecionar populações de moscas resistentes (DUBOIS, 1993; BYFORD *et al.*, 1999; BARROS *et al.*, 2001), pois quanto mais intensa for a utilização de parasiticidas, maior a pressão de seleção, mais rápido o desenvolvimento e maiores os níveis de resistência atingidos (BARROS, 2003).

A resistência é induzida por uma mutação do indivíduo e através dessa pressão de seleção pode se tornar uma característica da população ao longo da exposição a essas drogas letais, afetando o controle efetivo do inseto (BARROS *et al.*, 2013). Os mecanismos de resistência a inseticidas descritos são diversos e complexos, além de que podem atuar de forma simultânea em uma mesma população (SODERLUND; BLOOMQUIST, 1990) e são eles:

Resistência metabólica, onde enzimas metabolizam e detoxificam o inseticida, como esterases, glutatona S-transferases e citocromo P450 monooxigenases; resistência por alteração de alvo, onde ocorrem modificações nos locais de ligação do inseticida, reduzindo a afinidade do inseticida pelo alvo, como por exemplo, mutações no gene do canal de sódio (resistência a piretroides e DDT) e no gene da AChE (resistência a organofosforados e carbamatos); resistência por sequestro ou exclusão, em que mecanismos reduzem a quantidade de inseticida que atinge o local de ação, como a redução na penetração cuticular ou o aumento na excreção; além da resistência comportamental, pois ocorrem mudanças no comportamento do inseto que evitam os locais expostos a esses produtos (SODERLUND; BLOOMQUIST, 1990; HEMINGWAY *et al.*, 2004; LI; SCHULER; BERENBAUM, 2007).

O primeiro relato de resistência da mosca-dos-chifres a inseticidas ocorreu na década de 1960, nos Estados Unidos, antes mesmo da mosca chegar ao Brasil, quando o controle feito com DDT e toxafeno já não era mais eficaz (MCDUFFIE, 1960; HARRIS; FRAZAR; GRAHAM, 1966). Também foi comprovada a resistência ao organofosforado

fencloρφός em 1962 depois de três anos de uso intenso (BURNS; WILSON, 1963) e ao tetracloρφínός em brinco impregnado em 1979 (SHEPPARD, 1983). Na década de 80 foi relatada a resistência à classe dos piretroides, na época dos brinco impregnado, que pode ter sido acelerada pela resistência cruzada entre esta classe e o DDT (QUISENBERRY *et al.*, 1984; BYFORD *et al.*, 1985; MWANGALA; GALLOWAY, 1993).

No Brasil, populações de mosca-dos-chifres permaneceram suscetíveis a inseticidas piretroides e organofosforado até meados da década de 1990, conforme verificado por bioensaios (SCOTT; COUMENDOUROS; GRISI, 1994) e estudos de eficácia (GRISI; SCOTT, 1992; PEREIRA; COSSI JUNIOR; DIAS, 1994), quando as suspeitas de populações resistentes se tornaram cada vez mais frequentes em todas as regiões do país (BARROS, 2003).

O primeiro relato de resistência em populações de *H. irritans* no Brasil ocorreu em 2001, quando em um estudo realizado de 1999 a 2000, foram encontradas populações resistentes à cipermetrina em duas fazendas do Rio Grande do Sul (GUGLIELMONE *et al.*, 2001); resistência essa também encontrada em fazendas da Argentina, porém as populações eram suscetíveis ao organofosforado diazinon.

Desde então, a resistência à cipermetrina foi verificada em outros estados brasileiros como Piauí e Maranhão (GIRÃO *et al.*, 2002), Goiás e o Distrito Federal (SAUERESSIG; BARROS, 2003), Roraima (BRAGA; BARROS, 2003), Alagoas, Bahia e Sergipe (OLIVEIRA *et al.*, 2006), Mato Grosso do Sul (BARROS; GOMES; KOLLER, 2007; BARROS *et al.*, 2013) e São Paulo (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

Também já foi constatada resistência à permetrina, provavelmente pela resistência desenvolvida previamente à cipermetrina (OLIVEIRA *et al.*, 2006; HOLDERMAN *et al.*, 2018).

Em 1997, foi relatado um caso de resistência das moscas à cipermetrina no Uruguai, e isso pode ser justificado pela entrada, em 1991, de populações de moscas vindas do Brasil que provavelmente já haviam sido selecionadas por essa classe de inseticidas, porém, também eram suscetíveis ao diazinon (MARQUES *et al.*, 1997). Também foi relatada resistência à cipermetrina no Chile (OYARZÚN; LI; FIGUEROA, 2011).

Em relação aos organofosforados, Barros *et al.* (2001) observaram resistência ao fention, etion, diazinon (HOLDERMAN *et al.*, 2018), tetracloρφínός e pirimifós-metílico nos Estados Unidos. Kunz *et al.* (1995) observaram resistência ao diazinon em um dos cinco locais no México, indicando níveis de resistência que podem interferir em um controle adequado.

Já no Brasil, de acordo com a literatura pesquisada, ainda não foi relatada resistência de *H. irritans* aos organofosforados, lactonas macrocíclicas, fipronil e/ou IGRs. Existem apenas relatos que comprovam sua suscetibilidade a estes compostos (OLIVEIRA *et al.*, 2006; BRITO *et al.*, 2019; MIRABALLES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

De modo geral, em condições laboratoriais, a resistência se torna evidente em uma população após seleção por 20 a 30 gerações a depender da classe inseticida (KUNZ, 1991; MCKENZIE; BYFORD, 1993), mas a campo, o curto ciclo biológico da mosca e a indiscriminada pressão de seleção em que as populações geralmente são submetidas, fazem com que o aparecimento da resistência seja acelerado (BARROS, 2003). Rodrigues e Marchini (2001) encontraram 19,1 gerações anuais de *H. irritans* em São Paulo, Barros (2002) encontrou 22 gerações anuais no Pantanal, e Melo *et al.* (2020) encontraram 30 gerações anuais na região semiárida, o que pode justificar o aparecimento da resistência em uma população em 2 a 4 anos, pela redução na eficácia do inseticida (além da classe

utilizada) e falhas no controle juntamente com a pressão de seleção (QUISENBERRY *et al.*, 1984; SHEPPARD, 1984; BARROS *et al.*, 2001; GUGLIELMONE *et al.*, 2002).

## 2.8 Uso de Química Verde

Para reduzir os impactos ambientais e financeiros do uso de produtos sintéticos no controle desses insetos, Castrejón *et al.* (2003) propõem que sejam incorporados métodos de controles que reduzam o uso de moléculas sintéticas, como a utilização de derivados de plantas que tenham propriedades ectoparasitoides, em associação ou não com outras estratégias de controle, para reduzir ou eliminar substâncias que possam prejudicar o próprio animal, o ser humano e o ambiente (AGNOLIN *et al.*, 2010).

O uso de produtos derivados das plantas no controle de pragas na agricultura é relatado na literatura há pelo menos dois mil anos, em países como China, Egito, Índia e Grécia (THACKER, 2002), porém com o advento dos pesticidas sintéticos, essa prática foi substituída por causa da ação mais rápida desses pesticidas, mas houve o retorno do interesse por causa dessa necessidade de redução de danos (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2016).

Esses derivados das plantas são conhecidos como metabólitos secundários; compostos que não possuem uma distribuição universal nas plantas, pois não são necessários para todas elas. Isso os difere dos compostos originários do metabolismo primário, que nesse caso são essenciais, como carboidratos, lipídios, clorofila, aminoácidos e nucleotídeos (PERES, 2009).

Os metabólitos secundários das plantas possuem funções ecológicas importantes nos vegetais. Protegem as plantas contra herbívoros e contra a infecção por microrganismos patogênicos, agem como atrativos para polinizadores e dispersores de semente, além de atuar como agentes na competição planta-planta e nas simbioses plantas-microrganismos (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Dentre esses metabólitos estão os terpenos, compostos fenólicos e os alcaloides (PERES, 2009), e os óleos essenciais (OEs) são misturas de alguns desses metabólitos e são responsáveis pelas propriedades biológicas da planta (GALLUCCI *et al.*, 2009) e podem ser extraídos de raízes, caules, folhas, flores, cascas e frutos (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2016).

### 2.8.1 Óleos essenciais

A busca por inseticidas naturais tem se intensificado mediante a necessidade de métodos mais seguros para animais, seres humanos e meio ambiente (VIEIRA; FERNANDES; ANDREI, 2004; CAMPOS *et al.*, 2012), já que as substâncias extraídas das plantas apresentam vantagens em relação ao emprego dos inseticidas sintéticos, pois são obtidas de recursos renováveis e mais rapidamente degradados, por muitos destes apresentarem sensibilidade à luz solar, umidade ou calor (VIEIRA; FERNANDES; ANDREI, 2004; MORAIS; MARINHO-PRADO, 2016).

Diante disso, espera-se que os OEs de plantas aromáticas e medicinais utilizados isolados ou de forma associada possam reduzir a velocidade do desenvolvimento de resistência, os resíduos nos produtos de origem animal, além da toxicidade para animais e humanos e mínimo impacto na degradação ambiental (CAMPOS *et al.*, 2012).

Algumas das principais famílias botânicas com potencial inseticida são: Anacardiaceae, Apiaceae (Umbelliferae), Araceae, Asteraceae (Compositae), Brassicaceae (Cruciferae), Chemopodiaceae, Cupressaceae, Lamiaceae (Labiatae), Lauraceae, Liliaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Schisandraceae e Zingiberaceae, das quais

podem ser extraídos os OEs (LEE *et al.*, 2004; RAJENDRAN; SRIRANJINI, 2008; PÉREZ *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2011; BETT *et al.*, 2016).

Os OEs são compostos voláteis, naturais, complexos, caracterizados por um forte odor, misturas de metabólitos secundários de plantas aromáticas (BAKKALI *et al.*, 2008) com um bom potencial inseticida e efeito repelente contra vetores artrópodes e pragas (PAVELA; BENELLI, 2016) possuindo inúmeros constituintes (ELLSE; WALL, 2014), entre eles hidrocarbonetos (terpenos) e compostos oxigenados (álcoois, éteres, ésteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenóis e éteres fenólicos) (ISMAN, 2006; NERIO *et al.*, 2010; RAMSEY *et al.*, 2020).

Os terpenos abrangem a maior e mais importante classe de substâncias derivadas de plantas, fungos e organismos marinhos. Também podem ser chamados de terpenoides ou isoprenoides e são classificados em subgrupos de acordo com a sua unidade de isopreno em: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos, tetraterpenos e polisoprenoides (DE SOUZA *et al.*, 2021). Esses compostos são comumente responsáveis pelos odores e/ou aromas característicos das plantas das quais são obtidos (ISMAN; MACHIAL, 2006), por isso são muito utilizados na produção de aromatizantes, perfumes e produtos farmacêuticos (BIZZO, 2009).

A composição química dos OEs depende de fatores ambientais, período de colheita, fatores genéticos e técnica de extração (LIMA; KAPLAN; CRUZ, 2003; SANTOS, 2004), que geralmente pode ser por vapor ou hidrodestilação (BAKKALI *et al.*, 2008). A maioria dos OEs comercializados é identificada e quantificada por cromatografia gasosa e análise por espectrometria de massa (BAKKALI *et al.*, 2008).

Eles podem atuar por contato, ingestão e fumigação, e podem causar mortalidade, repelência, diminuição na alimentação e oviposição, efeitos no crescimento e na emergência de adultos (GUERRA *et al.*, 2009; KANDA; KAUR; KOUL, 2017).

Apesar de não terem mecanismo de ação completamente compreendido, existem evidências de um efeito neurotóxico por causa de sua ação rápida (ELLSE; WALL, 2014), em que alguns óleos apresentam mecanismos sobre canais de cloreto controlados por GABA (PRIESTLEY *et al.*, 2003), ou interferência do neuromodulador octopamina e inibição de AChE (ENAN, 2005a; PAVELA; BENELLI, 2016), além de ação em enzimas digestivas e interação com o tegumento do inseto (ISMAN, 2006), que podem penetrar na membrana citoplasmática já que são de natureza lipofílica (BAKKALI *et al.*, 2008). A microencapsulação de um OE pode reduzir a permeação da membrana prolongando sua eficácia (SOLOMON *et al.*, 2012).

A baixa toxicidade dos OEs aos mamíferos (ISMAN, 2000) sugere uma vantagem em relação aos inseticidas sintéticos, porém ainda não é sabido se são encontrados no leite quando aplicados como repelente de moscas em gado leiteiro (LACHANCE; GRANGE, 2014). De qualquer forma, apesar de serem substâncias naturais, devem ser utilizadas com cautela, respeitando o modo de aplicação e precauções estabelecidas (EL-WAKEIL; GAAFAR; VIDAL, 2006; OGUH *et al.*, 2019).

Embora exista uma quantidade significativa de substâncias naturais com propriedades para controlar pragas, que em sua maioria são de interesse agrícola, são poucos os produtos comerciais à base dessas substâncias disponíveis no mercado (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2016), pois de acordo com Pavela e Benelli (2016), se deve a quatro razões principais: muitos estudos publicados com apenas alguns resultados práticos, legislação rigorosa, baixa persistência dos efeitos e falta de qualidade e quantidade suficiente de materiais a preços acessíveis.



### 2.8.2 Óleos essenciais utilizados no controle de *Haematobia irritans*

Todos os trabalhos encontrados na literatura utilizando OEs contra as moscas-dos-chifres são recentes, que vão desde 2011 a 2022 com testes *in vitro* e *in vivo*.

Juan *et al.* (2011) testaram OEs de 16 espécies de *Eucalyptus*, em que o OE de *E. polybractea* apresentou atividade “knockdown” de 50% das moscas (TK<sub>50</sub>) em 3-4 min em uma câmara fechada, correlacionando o teor de 1,8-cineol presente no gênero *Eucalyptus* com a toxicidade para moscas-dos-chifres (JUAN *et al.*, 2011).

Klauck *et al.* (2014) avaliaram atividade inseticida dos OEs de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca) e *Carapa guianensis* (andiroba) em estudo *in vitro* utilizando os óleos nas concentrações de 1 e 5% e avaliaram que houve eficácia inseticida de 100% na concentração de 5% de ambos os óleos em até 4 horas após a exposição; também avaliaram atividade repelente dos OEs em vacas holandesas naturalmente infestadas e ambos demonstraram repelência por até 24 horas de 61,6% para o OE de *M. alternifolia* e 57,7% para o OE de *C. guianensis*.

Espinoza *et al.* (2021) realizaram testes *in vitro* com os OEs de *Blepharocalyx cruckshanksii* (palo colorado) e *Pilgerodendron uviferum* (cipreste-das-guaitecas) e ambos apresentaram toxicidade contra a mosca, além de repelência espacial no olfatômetro e capacidade de reduzir significativamente sua alimentação (ESPINOZA *et al.*, 2021).

Castro *et al.* (2022) também avaliaram a atividade inseticida *in vitro* dos OEs de *Alpinia zerumbet* (colônia), *Mesosphaerum suaveolens* (bamburral), *Varronia curassavica* (erva-baleeira), e *Psidium guajava* (goiabeira) pelo método do disco papel filtro impregnado, assim como Braga (2017) que testou o OE de *Piper tuberculatum* (pimenta-de-macaco) pelo mesmo método e nos dois trabalhos os resultados de mortalidade foram satisfatórios para todos os OEs: *A. zerumbet* e *M. suaveolens* resultaram em 100% de mortalidade na concentração de 50000 µg/mL, e *V. curassavica* e *P. guajava* causaram 99,2 e 82,8% de mortalidade, respectivamente, na concentração de 100000 µg/mL. Os extratos etanólicos das folhas, dos talos, acetato de etila de talos e hexânico de frutos de *P. tuberculatum* obtiveram concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>) de 6000, 61140, 136880 e 1030 µg/mL, para cada extrato, respectivamente.

O OE de erva-dos-gatos (“catnip”), *Nepeta cataria*, e o geraniol (composto majoritário de alguns OEs) também agem contra a mosca-dos-chifres. Em um experimento *in vitro*, a alimentação das moscas ficou reduzida e a atividade residual foi observada por até 3 dias, além de exibirem repelência. Já em bovinos, a eficácia residual durou 24 horas (ZHU *et al.*, 2015).

Lachance e Grange (2014) testaram óleos essenciais de *Ocimum basilicum* (manjerição), *Lavandula angustifolia* (lavanda), *M. alternifolia* (melaleuca), *Abies balsamea* (bálsamo de abeto), *Pelargonium* spp. (gerânio), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Mentha x piperita* (hortelã-pimenta) e *Pinus sylvestris* (pinho silvestre), diluídos em óleo de girassol e álcool etílico, em bovinos confinados e a pasto. Apesar de bovinos a pasto tratados com OEs diluídos em óleo de girassol terem apresentado menos moscas que o grupo não tratado por um período de 24 horas, não houve diferença no tratamento entre os OEs e o óleo de girassol sozinho. Os bovinos confinados tratados apresentaram menos moscas por até oito horas após o tratamento, onde os OEs de *O. basilicum*, *Pelargonium* spp., *L. angustifolia*, *C. citratus* e *Me. x piperita* repeliram mais moscas que o óleo de girassol sozinho variando entre 1,5 e 4 horas após o tratamento. Já os OEs diluídos em álcool etílico apresentaram menor repelência em comparação aos diluídos em óleo de girassol.

Boito *et al.* (2018) também realizaram teste *in vivo* com OE de *Cinnamomum zeylanicum* (canela-verdadeira) a 5% em bovinos naturalmente infestados e na última avaliação realizada 33 horas após o tratamento, os animais do grupo tratado ainda apresentavam menor número de moscas em relação ao grupo controle.

### 2.8.3 *Eugenia caryophyllus*

*Eugenia caryophyllus* (= *Syzygium aromaticum*), mais conhecido como cravo-da-índia, pertence à família Myrtaceae. É nativo da Indonésia e bastante utilizado como tempero (PAOLI *et al.*, 2007). É uma árvore perene que pode chegar até 10-20 m de altura, com folhas grandes e ovais de 7-11 cm de comprimento, e flores pequenas, aromáticas, com tom carmesim, dispostas em corimbos terminais (Figura 1). Os botões florais inicialmente possuem uma cor pálida e gradativamente se tornam verdes, e estão prontos para coleta quando se desenvolvem em um vermelho brilhante. Os cravos são colhidos quando atingem 1,5-2 cm de comprimento e consistem em um longo cálice, finalizando em quatro sépalas (folhas estéreis) espalhadas e quatro pétalas fechadas que formam uma pequena circunferência ao centro (BISSET, 2001).

As propriedades terapêuticas de *E. caryophyllus* são seu efeito afrodisíaco (TAJUDDIN *et al.*, 2004), atividade gastroprotetora (SANTIN *et al.*, 2011), atividade antidiabética (SHUKRI; MOHAMED; MUSTAPHA, 2010), efeito antioxidante (OGATA *et al.*, 2000; BARBOZA *et al.*, 2018), antitumoral (PAL *et al.*, 2010; ARUNG *et al.*, 2011), anestésico e anti-inflamatório (ROTILI *et al.*, 2012; BARBOZA *et al.*, 2018), atividade antimicrobiana (KUROKAWA *et al.*, 1998; PAWAR; THAKER, 2006; DEVI *et al.*, 2010) e atividade inseticida e acaricida (CHOI *et al.*, 2010; PASAY *et al.*, 2010; LAMBERT *et al.*, 2020).



**Figura 1** – Cultivo de *Eugenia caryophyllus* (cravo-da-índia). Fonte: Ferquima.

#### 2.8.4 *Cinnamomum cassia*

*Cinnamomum cassia* é uma espécie arbórea aromática pertencente à família Lauraceae (ZHANG *et al.*, 2019), conhecida popularmente como canela cássia (Figura 2). Esta família possui distribuição tropical e subtropical, concentrada em florestas pluviais da Ásia e Américas. No Brasil, ocorrem 25 gêneros e cerca de 400 espécies, em sua maioria árvores e arbustos, com cheiro característico nas folhas quando esmagadas, pela presença de óleos essenciais (GAIAD; CARVALHO, 2021). A canela é obtida da casca dos ramos jovens, e é amplamente utilizada por sua fragrância e sabor picante (ZHANG *et al.*, 2019).

Os OEs de plantas têm muitas funções biológicas importantes e atividades fisiológicas, e como característica da família Lauraceae, o OE de *C. cassia* possui atividade antimicrobiana (ALMEIDA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2017) antitumoral (YANG *et al.*, 2015), anti-inflamatória (SUN *et al.*, 2016) e inseticida (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020).



**Figura 2** – Cultivo de *Cinnamomum cassia* (canela cássia). Fonte: Ferquima.

#### 2.8.5 *Thymus vulgaris*

O tomilho branco *Thymus vulgaris* pertence à família Lamiaceae e é um pequeno arbusto perene (Figura 3), com uma cobertura semiperene que raramente chega a 40 cm (vertical e horizontal). É originário da Europa e cultivado no sul e sudeste do Brasil (REDDY *et al.*, 2014; SAKURAI *et al.*, 2016). As folhas de *T. vulgaris* são pequenas, de formato oval a retangular, e alguns componentes aéreos carnosos são utilizados para a



produção do OE, extraído principalmente por destilação a vapor. O mercado contemporâneo e de ervas secas a utiliza para funções culinárias (REDDY *et al.*, 2014).

Sua atividade biológica é relacionada intimamente com seus principais constituintes, timol e carvacrol (LEMOS *et al.*, 1990; SAKURAI *et al.*, 2016), e dentre elas estão: atividade antifúngica (SPECIAN; DE OLIVEIRA; DE SOUZA DINIZ, 2009), antibacteriana (MOHSENIPOUR; HASSANSHAHIAN, 2015), anestésica (YOUSEFI *et al.*, 2018), antioxidante (LEE *et al.*, 2005), atividade inseticida (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020) e tripanocida (SANTORO *et al.*, 2007).



**Figura 3** – Cultivo de *Thymus vulgaris* (tomilho branco). Fonte: Ferquima.

### 2.8.6 *Illicium verum*

Pertencente à família Schisandraceae, *Illicium verum* é uma árvore perene aromática com flores vermelho-púrpura e frutas em formato de estrela, chamada de anis estrelado (Figura 4), nativa do sudoeste da China e Vietnã e amplamente cultivada nas áreas tropicais e subtropicais da Ásia. O anis estrelado é comumente utilizado como especiaria, com sabor característico de alcaçuz derivado de um composto chamado anetol, e é importante para a medicina tradicional chinesa, utilizado em tratamento de vômitos, dores de estômago, insônia, inflamação da pele e dor reumática (LOI; THU, 1970; VERGHESE, 1988; ITOIGAWA *et al.*, 2004).

O OE de *I. verum* exibe diversas atividades biológicas, incluindo atividade antifúngica (HUANG *et al.*, 2010), antimicrobiana (BRUM *et al.*, 2022), inseticida (CHAIYASIT *et al.*, 2006; FREITAS *et al.*, 2021) e acaricida (CORRÊA, 2017).



**Figura 4** – Cultivo de *Illicium verum* (anis estrelado). Fonte: Ferquima.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização do Ensaio

O ensaio foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) e em sua fazenda experimental, pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As instalações da área laboratorial do LQEPV ficam localizadas no Anexo I do Instituto de Veterinária.

#### 3.2 Animais

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/IV/UFRRJ) sob número de protocolo 8965270522 (Anexo A), realizado no período de fevereiro a maio de 2022.

Nesse período foram utilizados cinco animais pertencentes à área de campo do LQEPV, naturalmente infestados com moscas da espécie *H. irritans*, com um bom estado sanitário e índole adequada para o manejo.

Os bovinos permaneceram juntos durante todo o período do estudo em piquete isolado de *Urochloa humidicola* (= *Brachiaria humidicola*) com aproximadamente 2 hectares e consumo de água *ad libitum*.

#### 3.3 Captura e Acondicionamento das Moscas

Para a captura das moscas adultas, os animais eram levados até o curral de apartação, para a coleta ser realizada na área de espera, sem a necessidade de contenção dos animais.

A coleta foi realizada com auxílio de um puçá entomológico passado sobre o dorso dos animais ou demais regiões onde as moscas estavam localizadas (Figura 5). À medida em que as moscas eram capturadas, elas eram soltas em gaiolas de polipropileno de mesma dimensão (24x35x24cm) e esse procedimento de captura foi repetido até alcançar um número de moscas suficiente para a realização dos testes, ou seja, aproximadamente 1000 espécimes por teste (Figura 6).

O puçá foi confeccionado com cabo de 80 cm e uma abertura de 30 cm de diâmetro, com tecido organza de 1 m de comprimento. E as gaiolas utilizadas (Figura 6) possuíam uma abertura na tampa vedada com um tecido de poliamida, e outra abertura em um dos lados menores onde havia um tecido de elastano sintético colado na borda por onde ocorria a manipulação das moscas.

Após a coleta, as gaiolas foram transportadas até o Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV).



**Figura 5** – Captura dos espécimes adultos de em bovinos naturalmente infestados oriundos da Fazenda Experimental do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Fonte: Arquivo pessoal (2022).





**Figura 6** – Gaiolas de polipropileno (24x35x24cm) adaptadas com abertura em um dos lados, fechada com tecido de elastano contendo os espécimes adultos de *Haematobia irritans* coletados diretamente dos bovinos. Fonte: Arquivo pessoal (2022).

### 3.4 Origem dos Óleos Essenciais

Os OEs utilizados foram de *Eugenia caryophyllus* (botões), *Cinnamomum cassia* (folhas/cascas/talo), *Thymus vulgaris* (folhas/flores), que foram obtidos comercialmente através da empresa Ferquima (Vargem Grande Paulista/SP) e o OE de *Illicium verum* (frutos) obtido da empresa Via Aroma (Porto Alegre/RS).

De acordo com o fabricante, o processo de extração foi realizado através de destilação a vapor. Os OEs adquiridos foram mantidos em frascos de vidro âmbar, protegidos com batoque e tampa de rosca, acondicionados em freezer a -20°C para reduzir a degradação dos compostos químicos presente neles.

Os OEs mencionados anteriormente foram escolhidos por apresentarem alta atividade pulicida em pesquisas anteriores realizadas no LQEPV (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020; LAMBERT *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2021).



### 3.5 Caracterização Química dos Óleos Essenciais

A identificação e quantificação dos principais constituintes dos OEs de *E. caryophyllus*, *C. cassia*, *T. vulgaris* e *I. verum* foram realizadas através de análise cromatográfica no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ (LABPAM/UFRRJ).

A identificação dos constituintes foi realizada pela técnica de cromatografia gasosa (CG) com detecção por ionização de chama (FID). As substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílica fundida HP-5, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, filme de 0,25 µm de espessura, fabricante Agilent. As temperaturas do forno, injetor e detector foram programadas conforme descrito por Adams (2007). O gás hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL/min.

Os cromatogramas obtidos a partir da CG-FID permitiram realizar a análise quantitativa das amostras de OEs através da área relativa de cada pico analisado. O percentual dos constituintes de cada OE foi calculado a partir da área relativa de cada pico analisado por GC-FID.

Os OEs também foram analisados através do método de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) no aparelho QP-2010 Plus, marca Shimadzu. O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de CG-EM foram os mesmos descritos para CG-FID (ADAMS, 2007). O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons de 70 eV e varredura de massas de 40 a 400 m/z e 0,5 scan/s. O índice de retenção dos constituintes foi calculado com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos C8-C20 (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

Os constituintes foram identificados por comparação dos espectros de massa obtidos pelo banco de dados do aparelho com a biblioteca NIST - Mass Spectrometry Data Center e com aqueles relatados por Adams (2007).

### 3.6 Preparo das Soluções

Para a realização dos testes *in vitro*, os adultos de *H. irritans* foram expostos aos OEs de *E. caryophyllus*, *C. cassia*, *T. vulgaris* e *I. verum* em concentrações previamente determinadas através de testes pilotos. As soluções dos OEs utilizadas foram preparadas no Laboratório de Farmacomетria, localizado nas dependências do LQEPV.

Cada OE foi diluído diretamente em acetona pura PA 99,5% em concentrações expressas em µg/mL, em que, após a impregnação com 1 mL de cada concentração nos discos de papel filtro com diâmetro de 90mm (63,62cm<sup>2</sup> de área) passaram a ser expressas em µg/cm<sup>2</sup> e foram detalhadas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Concentrações utilizadas nos testes para os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* antes e depois da impregnação dos discos de papel filtro.

Óleo essencial	Concentrações	
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/cm}^2$
OEEC	50, 250, 500, 750, 1000	0,79; 3,93; 7,86; 11,79; 15,72
OECC	50, 250, 500, 750, 1000, 2500	0,79; 3,93; 7,86; 11,79; 15,72; 39,30
OETV	500, 750, 1000, 2000, 3000	7,86; 11,79; 15,72; 31,44; 47,15
OEIV	2500, 5000, 7500, 10000, 15000	39,30; 78,59; 117,89; 157,18; 235,77

OEEC = óleo essencial de *Eugenia caryophyllus*; OECC = óleo essencial de *Cinnamomum cassia*; OETV = Óleo essencial de *Thymus vulgaris*; OEIV = óleo essencial de *Illicium verum*

Como controle positivo foram utilizados os ativos fipronil e cipermetrina, ambos padrão Sigma, também diluídos em acetona nas concentrações apresentadas a seguir na Tabela 2. E como controle negativo os discos de papel filtro foram impregnados somente com acetona.

**Tabela 2** – Concentrações utilizadas nos testes para os ativos do controle positivo Fipronil e Cipermetrina antes e depois da impregnação dos discos de papel filtro.

Ativo	Concentrações	
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/cm}^2$
Fipronil	50, 100, 150, 250, 350, 450, 650, 1000, 1500	0,79; 1,57; 2,36; 3,93; 5,50; 7,07; 10,22; 15,72; 23,58
Cipermetrina	4000, 20000, 40000, 50000; 60000, 80000, 100000	62,87; 314,37; 628,73; 785,92; 943,10; 1257,47; 1571,83

### 3.7 Ensaio *in vitro*

A metodologia adaptada de Sheppard e Hinkle (1987) foi escolhida por ser uma técnica rápida, barata e de fácil execução, já que os materiais utilizados são apenas placas de Petri, discos de papel filtro, fita adesiva transparente e fita de papel crepado. Além disso, é uma técnica de eleição para avaliar os casos de resistência das moscas aos inseticidas.

Os discos de papel filtro (Whatmann nº 1) de 90 mm de diâmetro e área de 63,62 cm<sup>2</sup> foram impregnados com as concentrações dos OEs e ativos citadas acima, em ordem crescente de concentração. Foram utilizados seis discos por concentração (sextuplicatas). Depois da impregnação eles permaneceram sobre o papel alumínio na bancada, em temperatura ambiente, durante 30 minutos para a completa evaporação do diluente, e então, foram dispostos nas placas de Petri descartáveis de tamanho 90 x 15 mm.

Após os discos impregnados serem dispostos nas placas, suas laterais foram vedadas com a fita adesiva. Com o auxílio de um sugador entomológico, uma média de 15 moscas foram transferidas para a placa de Petri, através de um orifício central com aproximadamente 2 cm de diâmetro em sua parte superior, e esse orifício foi vedado com fita crepe imediatamente após as moscas serem inseridas na placa (Figura 7).



**Figura 7** – Placa de Petri (90x15mm) com disco de papel filtro previamente impregnado vedada lateralmente com fita adesiva transparente. Após a inserção das moscas, o orifício central foi vedado com fita de papel crepado. Fonte: Arquivo pessoal (2022).

As avaliações da mortalidade foram feitas duas e quatro horas após a exposição, através da visualização do movimento das moscas, onde espécimes que apresentaram qualquer tipo de movimento foram considerados vivos. Posteriormente, o número total de moscas por placa foi contado, para cálculo de percentual de mortalidade em cada concentração, calculado de acordo com a fórmula proposta por Abbott (1925):

$$\text{Mortalidade (\%)} = \frac{\text{mortalidade do grupo tratado} - \text{mortalidade do grupo controle}}{(100 - \text{mortalidade do grupo controle})} \times 100$$

### 3.8 Análise Estatística

Os dados encontrados no ensaio foram tabulados e os valores de concentração letal (CL) CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>, os limites inferiores e superiores, Slope, R linear, qui-quadrado e o valor de *p* foram calculados por meio da análise Probit, utilizando o programa computacional RStudio Team Software (2020, RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA, USA) com intervalo de confiança de 95% (*p* ≤ 0,05).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais

Os constituintes presentes nos OEs e seus respectivos percentuais foram identificados através da cromatografia gasosa (Tabela 3) que possibilitou a identificação dos constituintes majoritários de cada óleo, sendo: 84% de eugenol em *E. caryophyllus*, 91% de (E)-cinamaldeído em *C. cassia*, 44,7% de timol e 26,6% de ocimeno em *T. vulgaris* e 79,96% de (E)-anetol em *I. verum*.

**Tabela 3** – Resultado da composição química dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum*. (continua)

Componente	Percentual Identificado (%)			
	OEEC	OECC	OETV	OEIV
(E)-Anetol	---	---	---	<b>79,96</b>
(E)-Cariofileno	---	---	2,1	---
(E)-cinamaldeído	---	<b>91,0</b>	---	---
(E)-cinamil acetato	---	3,3	---	---
(Z)-Anetol	---	---	---	0,63
1,8-Cineol	---	---	1,1	0,42
Acetato de Eugenila	8,0	---	---	---
Anisaldeído	---	---	---	2,49
Benzaldeído	---	1,9	---	---
$\beta$ -Cariofileno	6,0	---	---	---
Borneol	---	---	1	---
Canfeno	---	---	0,6	---
Cânfora	---	---	1,7	---
Careno	---	---	---	0,36
Carvacrol	---	---	3,2	---
Cumarina	---	2,5	---	---
Estragol	---	---	---	5,75
Eugenol	<b>84,0</b>	---	---	---
Himacaleno	---	---	---	1,2
Isoborneol	---	---	0,5	---
Limoneno	---	---	---	2,05
Linalol	---	---	6,2	---
Mirceno	---	---	1,3	---
Ocimeno	---	---	<b>26,6</b>	---
Salicilaldeído	---	0,5	---	---

**Tabela 3 – Continuação**

Terpinen-4-ol	---	---	1,1	0,29
Terpineol	---	---	---	3,58
Tijapicina	---	---	---	0,39
Timol	---	---	<b>44,7</b>	---
Ylangeno	---	---	---	0,31
$\alpha$ -Felandreno	---	---	---	0,57
$\alpha$ -Pino	---	---	2,2	0,97
$\beta$ -Felandreno	---	---	---	0,43
$\gamma$ -Terpineno	---	---	7,8	---
Não identificado	2	0,8	---	0,6
Total identificado (%)	98,0	99,2	100,1	99,4
Total de constituintes (n)	3	5	14	16

Legenda: OEEC = óleo essencial de *Eugenia caryophyllus*; OECC = óleo essencial de *Cinnamomum cassia*; OETV = Óleo essencial de *Thymus vulgaris*; OEIV = óleo essencial de *Illicium verum*

Jirovetz *et al.* (2006) encontraram 23 constituintes no OE das folhas do *E. caryophyllus*, compreendendo cerca de 99% de sua composição total. Os principais constituintes encontrados pelos autores foram eugenol (76,8%), seguido por  $\beta$ -cariofileno (17,4%),  $\alpha$ -humuleno (2,1%) e acetato de eugenila (1,2%). A análise de Silvestri *et al.* (2010) também apontou eugenol como constituinte majoritário (90,3%), além de  $\beta$ -cariofileno (4,83%) e acetato de eugenol (1,87%). Buentello-Wong *et al.* (2016), assim como no presente trabalho, encontraram acetato de eugenila em maior quantidade que  $\beta$ -cariofileno, com percentuais de  $\beta$ -cariofileno semelhantes.

Os constituintes encontrados no OE de *C. cassia* de acordo com Souza *et al.*, (2016) foram (E)-cinamaldeído (84,52%), (E)-o-metoxicinamaldeído (8,79%) e acetato de (E)-cinamila (1,44%). Ribeiro-Santos *et al.* (2017) também adquiriram o OE de *C. cassia* da empresa Ferquima e encontraram 9 constituintes em sua composição, diferente deste trabalho em que 5 constituintes foram encontrados, sendo eles (E)-cinamaldeído (86,44%), (E)-o-metoxicinamaldeído (8,36%), cumarina (1,6%), acetato de (E)-cinamila (1,14%), benzaldeído (1,02%), o-anisaldeído (0,59%), álcool feniletílico (0,33%), salicilaldeído (0,27%) e pentil-benzeno (0,24%), além de percentuais distintos, demonstrando que OEs de um mesmo fornecedor podem apresentar variações em sua composição química.

Souza *et al.* (2016) encontraram timol (50,89%) como composto majoritário do OE de *T. vulgaris*, seguido de p-cimeno (24,87%),  $\gamma$ -terpineno (5,91%), linalol (4,46%) e carvacrol (2,93%). Foram 5 constituintes contra 14 do presente estudo, com percentuais próximos encontrados para timol (44,7%), ocimeno (26,6%),  $\gamma$ -terpineno (7,8%), linalol (6,2%) e carvacrol (3,2%). Já para Buentello-Wong *et al.* (2016), o percentual de timol encontrado foi menor (36,85%) e o percentual de p-cimeno foi maior (32,49%) em relação aos encontrados neste estudo e por Souza *et al.* (2016).

O principal constituinte do OE de *I. verum* encontrado por Freire *et al.* (2011) e por Souza *et al.* (2016) também foi (E)-anetol com percentuais maiores que o encontrado neste estudo, 90,41% e 87,69%, respectivamente. Outros constituintes encontrados por Freire *et al.* (2011) foram limoneno (2,65%), metil-chavicol (1,26%),  $\alpha$ -pino (0,35%) e terpinen-4-ol (0,30%). Já Souza *et al.* (2016) encontraram metil-chavicol (3,48%), linalol (1,30%) e p-anisalaldeído (1,24%). Neste trabalho foram encontrados estragol (5,75 %), anisalaldeído

(2,49%), terpineol (3,58%), limoneno (2,05%) e terpinen-4-ol (0,29%), entre outros constituintes com percentuais menores.

A composição, quantidade e qualidade dos OEs podem variar consideravelmente dependendo da espécie vegetal, genótipo, idade, órgão e estágio do ciclo vegetativo (SILVESTRE *et al.*, 1997; PERRY *et al.*, 1999), bem como das condições climáticas e do solo, além da época do ano em que a planta foi cultivada e colhida (HOLM *et al.*, 1997; MASOTTI *et al.*, 2003; ANGIONI *et al.*, 2006; BAKKALI *et al.*, 2008). Temperatura, umidade relativa, exposição ao sol e regime dos ventos também influenciam a composição, principalmente em espécies que possuem estruturas de estocagem superficiais (SIMÕES *et al.*, 2004), além do armazenamento e forma de aplicação desses óleos (PÉRINO-ISSARTIER *et al.*, 2013; ROWSHAN; BAHMANZADEGAN; SAHARKHIZ, 2013). Esses fatores justificam os diferentes percentuais encontrados nos mesmos constituintes e até mesmo diferentes constituintes encontrados em um mesmo óleo essencial/planta.

## 4.2 Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais

Após 2 e 4 horas do início do ensaio, foram feitas as avaliações das moscas para a determinação do percentual de mortalidade. Os resultados encontrados para os OEs em cada tempo de avaliação podem ser observados nas Tabelas 4 e 5, e os controles positivos se encontram nas Tabelas 6 e 7. A comparação do percentual de mortalidade de cada óleo pode ser observada na Figura 8.

**Tabela 4** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas aos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* após duas horas da realização do ensaio.

Avaliação de duas horas				
Concentrações (µg/cm <sup>2</sup> )	Mortalidade (%)			
	OEEC	OECC	OETV	OEIV
0,79	1,51	0	-	-
3,93	0,21	6,47	-	-
7,86	85,92	52,66	1,25	-
11,79	100	61,30	1,32	-
15,72	100	81,04	34,62	-
31,44	-	-	95,06	-
39,30	-	100	-	1,15
47,15	-	-	100	-
78,59	-	-	-	45,24
117,89	-	-	-	81,82
157,18	-	-	-	95,40
235,77	-	-	-	100

Legenda: OEEC = óleo essencial de *Eugenia caryophyllus*; OECC = óleo essencial de *Cinnamomum cassia*; OETV = Óleo essencial de *Thymus vulgaris*; OEIV = óleo essencial de *Illicium verum*

**Tabela 5** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas aos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* após quatro horas da realização do ensaio.

Avaliação de quatro horas				
Concentrações (µg/cm <sup>2</sup> )	Mortalidade (%)			
	OEEC	OECC	OETV	OEIV
0,79	4,10	0	-	-
3,93	2,80	33,01	-	-
7,86	80,80	66,97	1,25	-
11,79	97,72	93,76	18,42	-
15,72	100	100	70,51	-
31,44	-	-	100	-
39,30	-	100	-	2,30
47,15	-	-	100	-
78,59	-	-	-	58,33
117,89	-	-	-	98,70
157,18	-	-	-	100
235,77	-	-	-	100

Legenda: OEEC = óleo essencial de *Eugenia caryophyllus*; OECC = óleo essencial de *Cinnamomum cassia*; OETV = Óleo essencial de *Thymus vulgaris*; OEIV = óleo essencial de *Illicium verum*

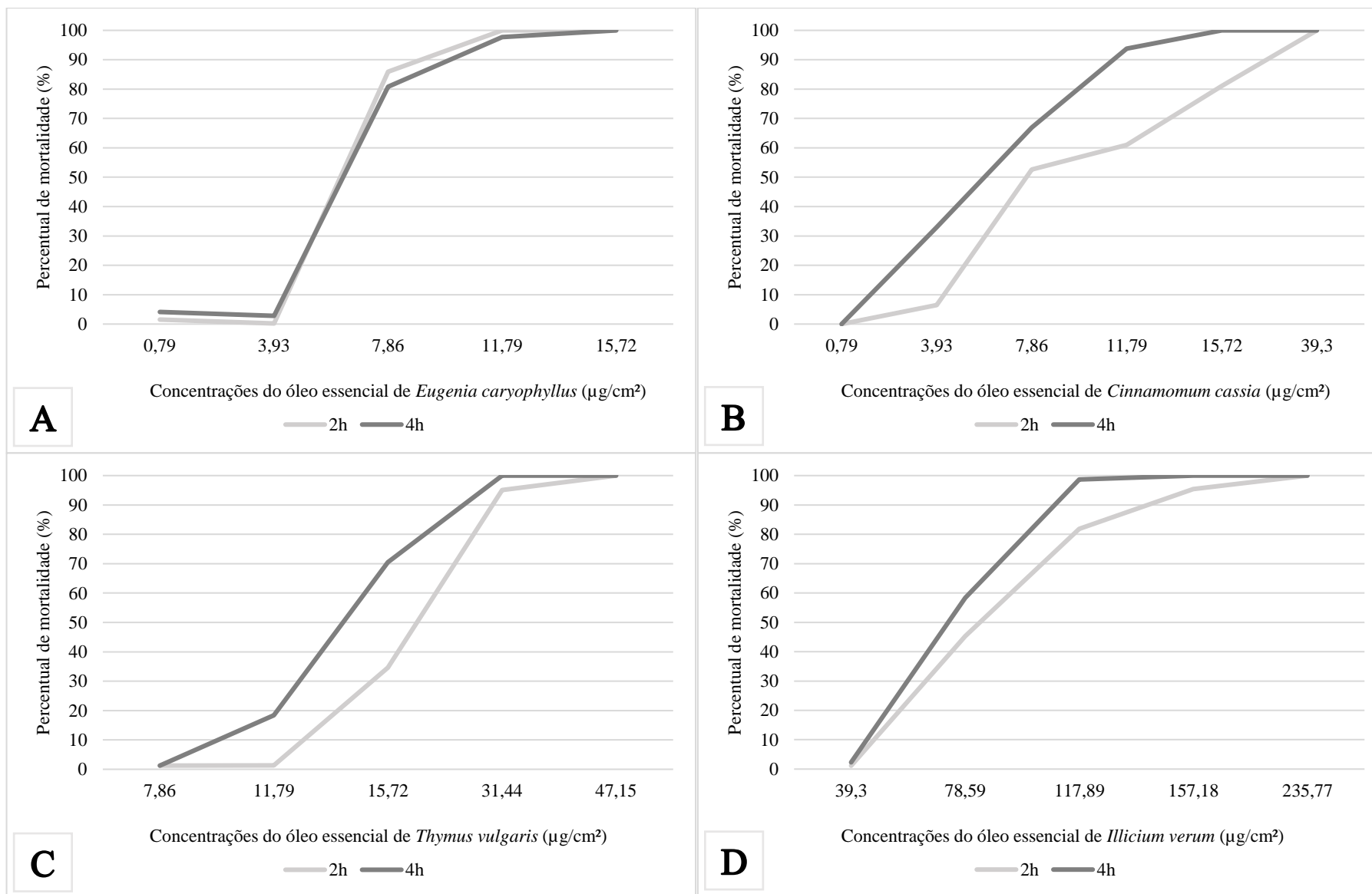
**Tabela 6** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas ao Fipronil (controle positivo) após duas e quatro horas da realização do ensaio.

Fipronil		
Concentrações (µg/cm <sup>2</sup> )	Mortalidade (%)	
	2h	4h
0,79	0	7,14
1,57	0	10,81
2,36	0	26,32
3,93	17,24	89,66
5,50	25,93	85,19
7,07	32,00	84,00
10,22	39,29	92,00
15,72	57,14	94,29
23,58	100	100

**Tabela 7** – Percentual de mortalidade de moscas adultas de *Haematobia irritans* expostas à Cipermetrina (controle positivo) após duas e quatro horas da realização do ensaio.

Cipermetrina		
Concentrações (µg/cm <sup>2</sup> )	Mortalidade (%)	
	2h	4h
62,87	0,0	6,35
314,37	1,92	4,73
628,73	3,13	25,96
785,92	21,43	46,15
943,10	20,00	56,92
1257,47	6,67	42,56
1571,83	14,29	43,59





**Figura 8** – Comparação do percentual de mortalidade dos adultos de *Haematobia irritans* em ambos os tempos de avaliação (2 e 4h) para os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus* (A); *Cinnamomum cassia* (B); *Thymus vulgaris* (C) e *Illicium verum* (D).

Todos os OEs resultaram em mais de 80% de mortalidade das moscas em pelo menos uma concentração na avaliação de duas horas. Enquanto o OE de *E. caryophyllus* resultou em 85,92% de mortalidade na concentração de 7,86 µg/cm<sup>2</sup> e 100% nas concentrações 11,79 e 15,72 µg/cm<sup>2</sup>, o OE de *C. cassia* na concentração de 7,86 µg/cm<sup>2</sup> resultou em apenas 53,66% de mortalidade, com percentuais acima de 80% na concentração de 15,72 µg/cm<sup>2</sup> e 100% em 39,30 µg/cm<sup>2</sup>. O OE de *T. vulgaris* só resultou alta taxa de mortalidade nas concentrações de 31,44 e 47,15 µg/cm<sup>2</sup>, com 95,06 e 100%, respectivamente. Já o OE de *I. verum* precisou de uma concentração maior (117,89 µg/cm<sup>2</sup>) para matar 81,80% das moscas, e as concentrações de 157,18 e 235,77 µg/cm<sup>2</sup> resultaram em respectivamente 95,40 e 100% de mortalidade.

Na avaliação de quatro horas, os percentuais de mortalidade dos OEs de *E. caryophyllus* e *I. verum* se mantiveram semelhantes aos de duas horas, apenas com pequenas variações, que em comparação com o OE de *C. cassia*, que aumentou de 61,30% em duas horas para 93,76% em quatro horas na concentração de 11,79 µg/cm<sup>2</sup>. E o OE de *T. vulgaris* com aumento considerável do percentual de mortalidade para a concentração de 15,72 µg/cm<sup>2</sup>, com 34,62% em duas horas para 70,51% em quatro horas, porém o percentual ainda foi menor que dos outros OEs testados nessa mesma concentração.

A concentração de 39,30 µg/cm<sup>2</sup> testada apenas nos OEs de *C. cassia* e *I. verum*, resultaram em percentuais diferentes entre eles. O OE de *C. cassia* com mortalidade total em apenas duas horas, enquanto o OE de *I. verum* ao final das quatro horas só havia resultado em 2,30% de mortalidade, demonstrando uma maior potência do OE de *C. cassia* em relação ao de *I. verum*. Estes dois óleos também foram testados *in vitro* contra adultos de besouros-do-fumo, *Lasioderma serricone*, na concentração de 0,7 mg/cm<sup>2</sup> (700 µg/cm<sup>2</sup>), e o OE de *C. cassia* resultou 100% de mortalidade logo no primeiro dia após a exposição e o OE de *I. verum* ao final do quarto dia de tratamento só havia resultado 25% de mortalidade (KIM *et al.*, 2003), corroborando com os resultados encontrados para *H. irritans* neste estudo, onde o OE de *C. cassia* obteve ação inseticida em menores concentrações que o OE de *I. verum*.

O OE de *E. caryophyllus* apresentou uma pequena redução nos percentuais de mortalidades entre duas e quatro horas para as concentrações de 7,86 e 11,79 µg/cm<sup>2</sup>, indo de 85,92 para 80,80% e 100 para 97,72%, respectivamente. Esse fato pode ser justificado pelo potencial anestésico que o eugenol, constituinte majoritário do OE de *E. caryophyllus* possui (ROTILI *et al.*, 2012). No entanto, isso não inviabiliza o potencial inseticida do OE de *E. caryophyllus* e do seu constituinte majoritário sobre os espécimes de *H. irritans*, visto que as concentrações letais permaneceram próximas nos dois tempos de avaliação (Tabela 6). Até mesmo porque o eugenol tem sido utilizado de forma promissora *in vitro* e *in vivo*, isolado ou associado a outros compostos no controle de carrapatos (FERREIRA *et al.*, 2018; MONTEIRO *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022).

As concentrações 0,79; 3,93 e 15,72 µg/cm<sup>2</sup> estão presentes em alguns OEs e no fipronil. E comparando a mortalidade das moscas nestas concentrações, a de 0,79 µg/cm<sup>2</sup> resultou em 0% de mortalidade tanto para o fipronil como para o óleo de *C. cassia* e uma mortalidade baixa de 1,51% para o óleo de *E. caryophyllus* em duas horas após o ensaio. Na avaliação de 4 horas, o percentual só aumentou para o fipronil com 7,14% e 4,1% para o OE de *E. caryophyllus*.

A concentração de 3,93 µg/cm<sup>2</sup> também resultou em mortalidade baixa para o fipronil (17,24%) e para ambos os óleos de *E. caryophyllus* (0,21%) e *C. cassia* (6,47%) na avaliação de 2 horas. Já na avaliação de 4 horas a mortalidade das moscas com fipronil aumentou consideravelmente para 89,66%. A concentração de 15,72 µg/cm<sup>2</sup> para o

fipronil matou em duas horas mais de 50% das moscas (57,14%) e mais de 90% em quatro horas (94,29%).

Somente após quatro horas do início do ensaio, a partir da concentração 3,93 µg/cm<sup>2</sup> houve acima de 80% de mortalidade. Apenas a última concentração do fipronil resultou em 100% de mortalidade em ambos os tempos de avaliação.

Nenhuma concentração de cipermetrina utilizada coincidiu com a de algum óleo ou até mesmo o fipronil; somente a menor concentração (62,87 µg/cm<sup>2</sup>) que está entre outras duas utilizadas para os OEs de *T. vulgaris* e *I. verum*, pois como já exposto anteriormente, existem relatos de resistência de populações de moscas a esse ativo no Brasil (GIRÃO *et al.*, 2002; BARROS; GOMES; KOLLER, 2007). Como a finalidade deste trabalho não foi estudar gene de resistência, não é possível afirmar que a cepa estudada possua traços de resistência à cipermetrina, porém, com os resultados encontrados, demonstrou ter baixa suscetibilidade, já que a maioria das concentrações utilizadas foram bastante superiores às concentrações utilizadas nos OEs.

Dito isso, a menor concentração utilizada de cipermetrina de 62,87 µg/cm<sup>2</sup> resultou em apenas 6,35% de mortalidade e a maior (1571,83 µg/cm<sup>2</sup>) resultou em 43,59% após quatro horas da realização do ensaio. Apenas uma concentração apresentou pouco mais de 50% de mortalidade, que foi a de 943,10 µg/cm<sup>2</sup> com 56,92% na avaliação de quatro horas.

A partir dos dados de mortalidade obtidos, a análise de Probit foi realizada para calcular as CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> do fipronil e dos quatro OEs testados (Tabela 8). Nesse caso, não foi possível calcular as concentrações letais da cipermetrina.

**Tabela 8** – Valores das concentrações letais (CL) CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> em µg/cm<sup>2</sup>, slope, coeficiente de regressão, qui-quadrado e *p*-valor do fipronil e dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum*.

Ativo/ OE	n	h	CL <sub>50</sub> (IC95%)	CL <sub>90</sub> (IC95%)	Slope ± DP	R <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	<i>p</i>
Fipronil	590	2h	10,59 (8,81 – 13,20)	28,10 (20,68 – 46,43)	3,02 ± 0,42	0,99	11,18	0,81
		4h	3,04 (2,51 – 3,64)	8,14 (6,43 – 11,51)	3,00 ± 0,48	0,74	18,15	0,98
OEEC	840	2h	5,04 (4,05 - 5,94)	11,71 (9,68 - 15,59)	3,50 ± 2,28	0,85	162,59	1,00
		4h	5,27 (4,43 - 6,04)	10,03 (8,56 - 12,75)	4,59 ± 9,66	0,83	1591,61	1,00
OECC	822	2h	8,57 (7,49 - 9,68)	19,26 (16,16 - 24,95)	3,64 ± 0,38	0,88	6,43	0,73
		4h	5,03 (4,16 - 5,81)	11,22 (9,59 - 13,99)	3,67 ± 0,59	0,76	13,58	0,98
OETV	850	2h	18,57 (16,94 - 20,67)	27,41 (24,05 - 33,44)	7,58 ± 1,01	0,94	8,48	0,92
		4h	14,08 (13,16 - 15,26)	18,80 (16,91 - 23,20)	10,20 ± 0,84	0,90	1,53	0,18
OEIV	906	2h	83,91 (73,95 - 93,30)	132,78 (117,47 - 159,12)	6,43 ± 0,27	0,89	0,69	0,12
		4h	71,88 (63,26 - 79,42)	101,30 (90,88 - 120,06)	8,60 ± 0,88	0,81	2,75	0,57

Legenda: OE = óleo essencial; OEEC = OE de *Eugenia caryophyllus*; OECC = OE de *Cinnamomum cassia*; OETV = OE de *Thymus vulgaris*; OEIV = OE de *Illicium verum*; n = número de moscas utilizados nos

testes; h = horário de avaliação após exposição; CL = concentração letal ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); IC = intervalo de confiança; DP = desvio padrão;  $R^2$  = coeficiente de regressão;  $\chi^2$  = qui-quadrado.

De Oliveira *et al.* (2006) evidenciaram a ocorrência de um nível elevado de resistência à cipermetrina ao realizarem a mesma metodologia em uma fazenda em Belém (Alagoas), quando encontraram uma  $CL_{50}$  de 1928,30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; concentração essa que se assemelha à última concentração utilizada nesse trabalho, de 1571,83  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , e que ainda assim não conseguiu resultar em 50% de mortalidade das moscas.

Barros *et al.* (2013) ao testarem cipermetrina em alguns locais do Mato Grosso do Sul, em 2004 e 2005, também encontraram elevados níveis de resistência em populações de moscas pelo estado utilizando concentrações bem menores que as utilizadas neste trabalho. A maior  $CL_{50}$  encontrada de todas as localidades foi de 163,29  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , em Campo Grande, na avaliação de 2 horas. Essa concentração ficaria entre as duas primeiras utilizadas neste trabalho (62,87 e 313,37  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) que resultaram em 0 e 1,92% de mortalidade, respectivamente. As  $CL_{50}$  da colônia suscetível mantida no USDA-Agricultural Research Service (ARS) (Kerrville, Texas, EUA), em 2004 e 2005, foram de 0,21 e 0,16  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente; concentrações consideravelmente abaixo das utilizadas neste trabalho.

Miraballes *et al.* (2021) também realizaram o mesmo tipo de ensaio utilizando fipronil em 31 populações de *H. irritans* de diferentes locais do Uruguai e encontraram após duas horas da realização do ensaio que a maioria das populações apresentou valores de  $CL_{50}$  abaixo do valor de referência da colônia suscetível do USDA-ARS que foi 7,28  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Neste presente trabalho o valor de  $CL_{50}$  encontrado para o fipronil foi de 10,59  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , acima do valor de referência da cepa suscetível, porém dentro de seus limites de confiança (4,67-14,88  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

O óleo essencial que apresentou menor  $CL_{50}$  em duas horas foi o OE de *E. caryophyllus* (5,04  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), enquanto o OE de *C. cassia* só apresentou o mesmo valor de  $CL_{50}$  (5,03  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em quatro horas. O OE de *I. verum*, apesar de gerar mortalidade entre as moscas, foi o óleo com menor atividade, precisando de uma concentração maior para matar metade da população com  $CL_{50}$  de 71,88  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  em quatro horas.

Matos *et al.* (2020) avaliaram a atividade inseticida do OE de *E. caryophyllus* e *I. verum* contra *Callosobruchus maculatus*, inseto praga do feijão-caupi, e obtiveram como resultado uma maior atividade do OE de *E. caryophyllus* em comparação com o *I. verum*, o que corrobora com o resultado obtido neste trabalho, onde *E. caryophyllus* apresentou uma relação de toxicidade 16,65 vezes maior que o *I. verum* após duas horas de exposição das moscas aos óleos.

O OE de *I. verum* também foi testado contra adultos de *Musca domestica* através do contato e da ingestão, apresentando alto potencial ovicida e de dissuasão de oviposição. Por contato, a concentração de 10% (1571,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) do óleo resultou 100% de “knockdown” após uma hora de exposição. A  $CL_{50}$  foi de 9,48% (1490,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e o tempo de “knockdown” suficiente para matar metade da população ( $TK_{50}$ ) foi 18,66 minutos (SINTHUSIRI; SOONWERA, 2013). Já por ingestão, a concentração de 10% apresentou taxa de inibição de eclosão de 97,33%, com  $CL_{50}$  de 6,85% (1076,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) (SINTHUSIRI; SOONWERA, 2014), comprovando a necessidade de altas concentrações do OE de *I. verum* para promover atividade inseticida.

A atividade inseticida dos OEs de *E. caryophyllus* e de *T. vulgaris* foi avaliada *in vitro* contra a mosca-da-fruta mexicana, *Anastrepha ludens*, através de alimentação dos óleos *ad libitum* em diferentes concentrações, com os valores encontrados de  $CL_{50}$  de 3529 ppm (55,47  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o *E. caryophyllus* e 5347 ppm (84,05  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o *T. vulgaris* (BUENTELLO-WONG *et al.*, 2016). O OE de *T. vulgaris* foi 2,67 vezes menos

potente que o OE de *E. caryophyllus* para *H. irritans* nesse estudo, semelhante ao observado por Buentello-Wong *et al.* (2016) contra a mosca *A. ludens*.

Os OEs de *E. caryophyllus* (botão e folhas) apresentaram maior repelência quando comparados com outros OEs e repelentes comerciais sobre fêmeas adultas de *Culex pipiens pallens* em teste *in vivo* com mãos humanas (KANG *et al.*, 2009). Hieu *et al.* (2010) testaram a repelência *in vivo* de 21 OEs contra *S. calcitrans*, também em mãos humanas e entre os óleos testados também estavam o de botão de *E. caryophyllus* e o de *T. vulgaris* que apresentaram atividade repelente por 3h30min e 2h07min na concentração de 0,50 mg/cm<sup>2</sup> (500 µg/cm<sup>2</sup>) e por 1h12min e 35min em 0,25 mg/cm<sup>2</sup> (250 µg/cm<sup>2</sup>), respectivamente. A ação repelente, além da ação inseticida apresentada pelos OEs de *E. caryophyllus* e *T. vulgaris* é uma vantagem no controle de *H. irritans*. E mesmo não sendo avaliada nesse estudo, deve ser avaliada futuramente contra as moscas-dos-chifres, pois substâncias com ação repelente impedem o artrópode de pousar ou picar a pele do animal, funcionando como uma barreira capaz de reduzir a transmissão de patógenos, além do estresse causado pelo parasito (SCHREIBER; CAMPBELL, 1986; CAMPBELL; THOMAS, 1992; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; CADIOLI *et al.*, 2012; SALAS *et al.*, 2017).

Relacionando os constituintes dos OEs com os modos de ação encontrados em outros estudos, pôde-se concluir que os diferentes constituintes de um óleo essencial podem atuar simultaneamente, e por isso seus modos de ação neurotóxicos não são mutuamente exclusivos (NOLL, 2020).

Os constituintes eugenol e  $\beta$ -cariofileno, presentes no óleo essencial de *E. caryophyllus*, se mostraram tóxicos contra outros dípteros (BARBOSA *et al.*, 2012; KHANIKOR; BORA, 2014). O eugenol atua através do sistema octopaminérgico ativando receptores para octopamina (neuromodulador) (ENAN, 2005a), onde em estudos com células cultivadas da barata de esgoto *Periplaneta americana* e cérebros de moscas-das-frutas *Drosophila melanogaster*, o eugenol mimetizou a ação da octopamina e aumentou os níveis intracelulares de cálcio (ENAN, 2005b). O  $\beta$ -cariofileno causou danos significativos ao aparelho locomotor de *D. melanogaster* (BEZERRA *et al.*, 2017), além de toxicidade de contato para três espécies de insetos de grãos armazenados (SUN *et al.*, 2020). Neste trabalho, os dois constituintes podem ter atuado em sinergismo, o que pode justificar o óleo de *E. caryophyllus* ter sido o mais potente entre os quatro OEs avaliados.

López e Pascual-Villalobos (2010) viram que linalol e estragol produziram maior inibição da AChE de insetos de grãos armazenados, podendo ser um possível modo de ação para os óleos de *T. vulgaris* e *I. verum* estrelado neste trabalho, já que possuem, respectivamente, estes constituintes.

A inibição da AChE também foi avaliada por Anderson e Coats (2012) como possível modo de ação do carvacrol, já que possui atividade inibitória da enzima em moscas, carrapatos e baratas. O timol também possui capacidade de inibir a AChE, porém em níveis menores que o carvacrol (JUKIC *et al.*, 2007). O timol se liga aos receptores GABA associados aos canais de cloreto localizados nas membranas dos neurônios pós-sinápticos e interrompe o funcionamento das sinapses (PRIESTLEY *et al.*, 2003). Dois modos de ação que podem funcionar sinergicamente, potencializando seus efeitos sobre a mosca-do-chifre e reforçando os resultados encontrados para o OE de *T. vulgaris*.

Trabalhos com OEs de plantas da mesma família do *E. caryophyllus* (Myrtaceae) já demonstraram ser eficazes contra *H. irritans*, como espécies de *Eucalyptus* (JUAN *et al.*, 2011), *P. guajava* (CASTRO *et al.*, 2022) e *M. alternifolia* (KLAUCK *et al.*, 2014), assim como da família do *T. vulgaris* (Lamiaceae) como *Men. x piperita*, *O. basilicum*, *L. angustifolia* (LACHANCE; GRANGE, 2014), *N. cataria* (ZHU *et al.*, 2015) e *Mes.*

*suaveolens* (CASTRO *et al.*, 2022), mas ainda são poucos os trabalhos avaliando a atividade inseticida dos OEs sobre esse parasito.

Pesquisas como essa e como as citadas acima podem servir como base para avaliação de outros OEs que possuem os mesmos constituintes majoritários, ou ainda avaliar os próprios constituintes majoritários de forma isolada ou associada sobre as moscas-dos-chifres. A utilização dos OEs no controle de *H. irritans* é uma área promissora que está apenas no início e mais pesquisas devem ser realizadas visando compreender melhor a ação desses OEs e de seus majoritários sobre as moscas, para que futuramente sejam produzidas formulações inseticidas a base desses compostos, com o intuito de aumentar a eficácia nas estratégias de controle, reduzir os períodos de carência e residual, além de driblar o aparecimento de populações resistentes.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os quatro OEs testados foram tóxicos possivelmente pela junção das atividades de contato e fumigação contra moscas-dos-chifres adultas em condições laboratoriais, sendo mais promissores os óleos de *E. caryophyllus* e *C. cassia*. No entanto, as condições climáticas nas fazendas não são controladas como nesses ensaios e formulações que contenham esses OEs podem ter alguns dos seus constituintes ativos degradando ou evaporando rapidamente, quando expostos ao sol, a chuva ou até elevadas temperaturas perdendo assim sua efetividade.

Nesse caso, antes dos OEs serem utilizados em animais parasitados em condições de campo, deve-se pesquisar formas que aumentem o tempo de atividade do OE, retardando o período de degradação dos seus constituintes, como o processo de encapsulamento, e a partir daí desenvolver e avaliar a estabilidade de formulações, como concentrados emulsionáveis em ensaios a campo.

## 6 CONCLUSÃO

Após as avaliações realizadas, concluiu-se que os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum cassia*, *Thymus vulgaris* e *Illicium verum* apresentaram atividade inseticida *in vitro* contra moscas adultas de *Haematobia irritans*, e o óleo essencial de *E. caryophyllus* resultou em melhores percentuais de mortalidade, seguido de *C. cassia*, *T. vulgaris* e *I. verum*.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAJOUD, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1347-1352, 2003.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th ed. Carol Stream: Allured Pub Corp. 2007.
- AGNOLIN, C. A. *et al.* Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitas de bovinos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 4, p. 482-487, 2010.
- ALMEIDA, L. F. D. *et al.* Atividade antifúngica e alterações morfológicas induzidas pelo óleo essencial de *Cinnamomum cassia* frente cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 12, n. 3, p. 393-398, 2012.
- ALVES-BRANCO, F. de P. J.; PINHEIRO, A. da C.; SAPPER, M. de F. M. Instrução Técnica para o Produtor: Orientação básica para o controle da mosca-dos-chifres "*Haematobia irritans*". **EMBRAPA Pecuária Sul**, 2000.
- ANDERSON, J.A.; COATS, J.R. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 102, p. 124-128, 2012.
- ANGIONI, A. *et al.* Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and Flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4364-4370, 2006.
- ARUNG, E. T. *et al.* Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. **Fitoterapia**, v. 82, n. 2, p. 198-202, 2011.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BARBOSA, J. D. *et al.* Structure–activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest Management Science**, v. 68, p. 1478-1483, 2012.
- BARBOZA, J. N. *et al.* An Overview on the Anti-inflammatory Potential and Antioxidant Profile of Eugenol. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-9, 2018.

BARROS, A.T.M. **Recomendações para controle da mosca-dos-chifres no Pantanal.** Corumbá, MS: EMBRAPA-CPAP, Comunicado Técnico, nº10, 1992. 4p.

BARROS, A. T. M. **Estudos sobre a mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em bovinos nelorados no pantanal.** Corumbá, MS: Embrapa-CPAP, Pesquisa em andamento, nº 14, p. 1-5, 1995.

BARROS, A. T. M. *et al.* Resistência da mosca-dos-chifres (Diptera: Muscidae) a inseticidas organofosforados. **Parasitologia Veterinária**, v. 96, n. 3, p. 243-256, 2001.

BARROS, A. T. M. Desenvolvimento e situação atual da resistência da mosca-dos-chifres a inseticidas, **Biológico**, v. 65, n. 1/2, p. 23-24, 2003.

BARROS, A. T. M. Situação da resistência da *Haematobia irritans* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl. 1, p. 109-110, 2004.

BARROS, A. T. M.; GOMES, A.; KOLLER, W. W. Insecticide susceptibility of horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, p. 145-151, 2007.

BARROS, A. T. M. *et al.* Susceptibility of the horn fly, *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae), to insecticides in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 125-132, 2012.

BARROS, A. T. M. *et al.* Mechanisms of pyrethroid resistance in *Haematobia irritans* (Muscidae) from Mato Grosso do Sul state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, p. 136-142, 2013.

BECKEL, H. S.; LORINI, I.; LAZZARI, S. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.)(Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, p. 110-114, 2006.

BETT, P. K. *et al.* Composição química dos óleos essenciais das folhas de *Cupressus lusitanica* e *Eucalyptus saligna* e bioatividade contra as principais pragas de insetos de grãos armazenados. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 82, p. 51-62, 2016.

BEZERRA, J. W. A *et al.* Estudo químico-biológico do óleo essencial de *Lantana montevidensis* (chumbinho) (Spreng.) Briq. (Verbenaceae) contra *Drosophila melanogaster*. **Revista Cubana de Plantas medicinales**, v. 22, n. 1, 2017.

BIANCHIN, I., HONER, M.R.; GOMES, A. Controle integrado da mosca-dos-chifres na região Centro-Oeste. **A Hora Veterinária**, v. 11, p. 43-46, 1992.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. **Mosca-dos-chifres: comportamento e danos em bovinos nelores.** Campo Grande, MS: Embrapa-CNPGC, Comunicado Técnico, v. 55, 8 p. 1997.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. Mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*: comportamento e danos em vacas e bezerros Nelore antes da desmama. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 109-113, 2002.

- BIANCHIN, I.; KOLLER, W. W.; DETMANN, E. Sazonalidade de *Haematobia irritans* no Brasil Central. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 79-86, 2006.
- BISSET, N. G. **Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice**. London: CRC Press, 2001. 566p.
- BIZZO, H.R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, n. 3, p: 588-594, 2009.
- BOBÉ, A. *et al.* Behavior of fipronil in soil under Sahelian plain field conditions. **Pesticide Science**, v. 52, p. 275-281, 1998.
- BOITO, J. P. *et al.* Efeito inseticida e repelente do óleo de canela em moscas associadas à pecuária. **Revista MVZ Córdoba**, v. 23, n. 2, p. 6628-6636, 2018.
- BORDIN, E. L. *Haematobia irritans*: controle químico com ivermectina formulação pour-on. **A Hora Veterinária**, v.11, n.65, p. 20-21, 1992.
- BRAGA, R. M.; BARROS, A. T. M. **Avaliação da susceptibilidade da mosca dos chifres (*Haematobia irritans*) a inseticida da classe dos piretróides em Roraima**. Boa vista, RR: Embrapa Roraima, Comunicado Técnico, n. 10, 2003. 6p.
- BRAGA, A. G. S. **Avaliação *in vitro* da atividade pesticida de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) para o controle das infestações de *Rhipicephalus microplus* (Ixodidae) e *Haematobia irritans* (Muscidae)**. 2017. 106 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE) -Universidade Federal do Amazonas - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Departamento Técnico-Normativo. Divisão de Meio Ambiente e Ecologia Humana. Organização Pan-Americana de Saúde: **Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos**, Brasília, 1997.
- BREIJO, M. *et al.* Evaluation of hematobin as a vaccine candidate to control *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) loads in cattle. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 3, p. 1390-1393, 2017.
- BREWER, G. J. *et al.* Horn fly (Diptera: Muscidae) – biology, management, and future research directions. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 12, n. 1, p. 42, 2021.
- BRITO, L. G. *et al.* **Mosca-dos-chifres: aspectos bio-ecológicos, importância econômica, interações parasito-hospedeiro e controle**. EMBRAPA, Comunicado Técnico, v. 302, p. 1-16, 2005.
- BRITO, L. G. *et al.* Pyrethroid and organophosphate pesticide resistance in field populations of horn fly in Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 1, p. 121-130, 2019.

BRUCE, W. G. *et al.* Um novo método de alimentação de moscas-dos-chifres adultas, *Haematobia irritans* L., e moscas dos estábulos, *Stomoxys calcitrans* L. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 11, n. 4, 1938.

BRUCE, W. G. The history and biology of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus); with comments of control. **Technical Bulletin (North Carolina Agricultural Experiment Station and USDA)**, v. 157, 1964.

BRUM, N. F. *et al.* Atividade antimicrobiana da herbácea *Illicium verum*: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 2, p. 7214-7223, 2022.

BUCHHOLZ, K. **The Biggest Producers of Beef in the World**, 2021. Disponível em: <<https://www.statista.com/chart/19127/biggest-producers-of-beef/>>. Acesso em: 03 fev. 2023.

BUENTELLO-WONG, S. *et al.* Toxicity of some essential oil formulations against the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew)(Diptera: Tephritidae). **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 58-62, 2016.

BURNS, E.C. *et al.* Effect of horn flies on rate of gain of stocker beef cattle. In: Annual Livestock Producers Day, 15., 1975. **Proceedings...** Baton Rouge, Louisiana State University, 1975. p. 258-261.

BURNS, E. C.; WILSON, B. H. Field resistance of horn flies to the organic phosphate insecticide Ronnel. **Journal of Economic Entomology**, v. 56, n. 5, 1963.

BYFORD, R. L. *et al.* Spectrum of insecticide cross-resistance in pyrethroid-resistant populations of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 78, n. 4, p.768-773, 1985.

BYFORD, R. L. *et al.* Horn fly (Diptera: Muscidae) dispersal among cattle herds. **Journal of Economic Entomology**, v. 80, p. 421-426, 1987.

BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; CROSBY, B. L. A review of ectoparasites and their effect on cattle production. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 2, 597-602, 1992.

BYFORD, R. L. *et al.* Influence of permethrin, diazinon and ivermectin treatments on insecticide resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 125-135, 1999.

CADIOLI, F. A. *et al.* Primeiro relato de surto de *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 118-124, 2012.

CAMPBELL, J. B.; THOMAS, G. D. The history, biology, economics, and control of the Horn Fly, *Haematobia irritans*. **Agri-practice**, v. 13, n. 4, p. 31-36, 1992.

CAMPBELL, J. B. *et al.* Efficacy of Several Insecticide Ear Tags for Control of Horn Flies (Diptera: Muscidae) on Nebraska Beef Cattle. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 79, n. 2, p. 113-118, 2006.

- CAMPOS, R. N. S. *et al.* Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 1, 2012.
- CASTREJÓN, F. M. *et al.* Repelência de larvas de *Boophilus microplus* em plantas de *Stylosanthes humilis* e *Stylosanthes hamata*. **Parasitología latinoamericana**, v. 58, n. 3-4, p. 118-121, 2003.
- CASTRO, K. N. C. *et al.* Eficácia in vitro de óleos essenciais contra *Haematobia irritans*. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 16, n. 4, p. 257-263, 2022.
- CHAIYASIT, D. *et al.* Essential oils as potential adulticides against two populations of *Aedes aegypti*, the laboratory and natural field strains, in Chiang Mai province, northern Thailand. **Parasitology Research**, v. 99, p. 715-721, 2006.
- CHAMBERLAIN, W. F. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. **Journal of Medical Entomology**, v. 12, p. 395-400, 1975.
- CHOI, H. Y. *et al.* Efficacy of spray formulations containing binary mixtures of clove and eucalyptus oils against susceptible and pyrethroid/ malathion-resistant head lice (Anoplura: Pediculidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 3, p. 387-391, 2010.
- CHRISTENSEN, C. M.; DOBSON, R. C. Effects of testosterone propionate on the sebaceous glands and subsequent attractiveness of Angus bulls and steers to horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, p. 386-391, 1979.
- CONCEIÇÃO, C. L. *et al.* Atividade pulicida comparativo *in vitro* do óleo essencial de *Cinnamomum cassia* e do cinamaldeído contra *Ctenocephalides felis*. **Archives of Veterinary Sciences**, v. 25, n. 5, 2020.
- CORRÊA, R. S. **Caracterização dos constituintes químicos e avaliação *in vitro* dos óleos essenciais de *Laurus nobilis*, *Illicium verum* e *Origanum vulgare* sobre *Rhipicephalus microplus***. 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) - Universidade de Cuiabá. Cuiabá, 2017.
- CRUZ-VÁZQUEZ, C. *et al.* Distribución anual de *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) en tres establos lecheros de Aguascalientes, México. **Veterinaria México**, v. 31, n. 3, 2000.
- CUPP, M. S. *et al.* Evaluation of a recombinant salivary gland protein (thrombostasin) as a vaccine candidate to disrupt blood-feeding by horn flies. **Vaccine**, v. 22, n. 17-18, p. 2285-2297, 2004.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental: uma revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 995-1002, 2002.

DANAHER, M. *et al.* Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 844, n. 2, p. 175-203, 2006.

DE OLIVEIRA, A. A. A *et al.* Suscetibilidade da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) a inseticidas nos tabuleiros costeiros de Alagoas, Bahia e Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 2, p. 65-70, 2006.

DE SOUZA, E. R. L. *et al.* Propriedades farmacológicas do Sesquiterpeno  $\alpha$ -Bisabolol: uma breve revisão. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n. 1, p. 18-23, 2021.

DELL'PORTO, A. *et al.* Eficácia do diflubenzuron 25% no controle da *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae): desafio *in vitro* e a campo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 617-620, 2012.

DEVI, K. P. *et al.* Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 107-115, 2010.

DRUMMOND, R. O.; GEORGE, J. E.; KUNZ, S. E. **Control of Arthropod Pests of Livestock: A Review of Technology**. Boca Raton, Florida, 1988.

DUBOIS, R. Pesticidas, antibióticos e a intoxicação humana. **A Hora Veterinária**, v.13, n.72, p.55-60, 1993.

EDWARDS, J. F. E. *et al.* Bovine Teat Atresia Associated with Horn Fly (*Haematobia irritans irritans* (L.)) - induced Dermatitis. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 4, p. 360-364, 2000.

ELDEFRAWI, A. T. *et al.* Insecticides affecting acetylcholine receptor interactions. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 16, p. 45-65, 1982.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, p. 233-243, 2014.

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

ENAN, E. E. Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 309-321, 2005a.

ENAN, E. E. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 59, p. 161-171, 2005b.

ESPINOZA, J. *et al.* Insecticidal, repellent and antifeedant activity of essential oils from *Blepharocalyx cruckshanksii* (Hook. & Arn.) Nied. leaves and *Pilgerodendron uviferum*

(D. Don) florin heartwood against horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Molecules**, v. 26, n. 22, p. 6936, 2021.

FARIA, M. J. **Mosca-dos-chifres**. PESAGRO-RIO, Informe Técnico, n. 26, 1998.

FERREIRA, F. M. *et al.* Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. **Medical and veterinary entomology**, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2018.

FIASSON, R. Notes sur les parasites animaux du Haut-Apure (Venezuela). **Revue de Médecine et de Pharmacie**, v. 2, n. 2, p. 125-151, 1943.

FINCHER, G. T. Injectable ivermectin for cattle: effects on some dung-inhabiting insects. **Environmental Entomology**, v. 21, n. 4, p. 871-876, 1992.

FLETCHER, J. The Cattle Horn Fly. **Scientific American**, v. 34, suppl. 882, p. 14100–14101, 1892.

FOIL, L. D.; HOGSETTE, J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 13, n. 4, p. 1125-1158, 1994.

FRANKS, R. E.; BURNS, E. C.; ENGLAND, N. C. Color preference of the horn fly, *Haematobia irritans* (L.), on beef cattle. **Journal of Economic Entomology**, v. 57, p. 371-372, 1964.

FREIRE, J. M. *et al.* Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume: chemical and antimicrobial characterization. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 209-214, 2011.

FREITAS, J. P. *et al.* Eficácia e efeito residual do óleo essencial de *Illicium verum* (anis estrelado) e *Pelargonium graveolens* (gerânio rosa) em pulgas de gato *Ctenocephalides felis felis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, 2021.

GAIAD, S.; CARVALHO, P. E. R. Espécies Arbóreas Brasileiras: Lauraceae. EMBRAPA, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/especies-arboreas-brasileiras/lauraceae>>. Acesso em: 28 jan. 2023.

GALLUCCI, M. N. *et al.* Antimicrobial combined action of terpenes against the foodborne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 24, p. 348-354, 2009.

GILLESPIE, B. E. *et al.* Deoxyribonucleic acid fingerprinting of *Staphylococcus aureus* from heifer mammary secretions and from horn flies. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1581-1585, 1999.

- GIRÃO, E.S. *et al.* Suscetibilidade da mosca-dos-chifres (Diptera: Muscidae) a inseticidas no Piauí e Maranhão. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: CBPV, 2002.
- GONZALEZ, R. *et al.* *H. irritans* in Chile. **Revista Chilena de Entomología**, v. 6, 1968.
- GORDON, D. V.; HAUF, W. O.; KLEIN, K. K. Determination of economic thresholds for horn fly control in Western Canada: A farm level simulation approach. **The Canadian Journal of Agricultural Economics**, v. 32, n. 2, p. 399-421, 1984.
- GRAF, J. F. The role of insect growth regulators in arthropod control. **Parasitology Today**, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.
- GRAF, J. F. *et al.* Tick control: an industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 427-442, 2004.
- GRISI, L.; SCOTT, F. B. Suscetibilidade de populações da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) a inseticidas no Estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 65, p. 11-12, 1992.
- GRISI, L. *et al.* Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, 150-156, 2014.
- GUERRA, A. M. N. M *et al.* Atividade inseticida de plantas medicinais sobre o *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 145-150, 2009.
- GUGLIELMONE, A. A. *et al.* **Perjuicios económicos provocados por la “mosca de los cuernos” (*Haematobia irritans*)**. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Información Técnica, v. 146, p.4., 1998.
- GUGLIELMONE, A. A. *et al.* Toxicity of cypermethrin and diazinon to *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) in its American southern range. **Veterinary Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 67-73, 2001.
- GUGLIELMONE, A. A. *et al.* Dynamics of cypermethrin resistance in the field in the horn fly, *Haematobia irritans*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 16, p. 3, p. 310-315, 2002.
- GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. São Paulo: Plêiade, 2001. 213 p.
- HALL, R. D. **Walk-Through Trap to Control Horn Flies on Cattle**. Disponível em: <<https://extension.missouri.edu/publications/g1195>>. Acesso em: 18 jan. 2023.
- HARRIS, R. L.; FRAZAR, E. D.; GRAHAM, O.H. Resistance to ronnel in a strain of horn flies. **Journal of Economic Entomology**, v. 59, n. 2, p. 387-390, 1966.



- HARRIS, R. L.; MILLER, J. A.; FRAZAR, E. D. Hornflies and stableflies feeding activity. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 67, p. 891-894, 1974.
- HEMINGWAY, J. *et al.* The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, n. 7, p. 653-665, 2004.
- HIBLER, C. P. Desenvolvimento de *Stephanofilaria stilesi* na mosca-dos-chifres. **O Jornal de Parasitologia**, p. 890-898, 1966.
- HIEU, T. T. *et al.* Repellency to *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) of plant essential oils alone or in combination with *Calophyllum inophyllum* nut oil. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 4, p. 575-580, 2010.
- HOLDERMAN, C. J. *et al.* Resistance to Permethrin,  $\beta$ -cyfluthrin, and Diazinon in Florida Horn Fly Populations. **Insects**, v. 9, n. 2, p. 63, 2018.
- HOLM, Y. *et al.* Variation in the essential oil composition of *Artemisia annua* L. of different origin cultivated in Finland. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, p. 241-246, 1997.
- HONER, M. R.; GOMES, A. **O manejo integrado de mosca dos chifres, berne e carrapato em gado de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, Circular Técnica, v. 22, 1990, 60p.
- HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES, A. **Mosca-dos-chifres: histórico, biologia e controle**. Campo Grande, MS: Embrapa-CNPGC, Circular Técnico, v. 45, 1990. 34p.
- HUANG, Y. *et al.* Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit and Its Main Component trans-Anethole. **Molecules**, v. 15, p. 7558-7569, 2010.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2021**, Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2021>>. Acesso em 20 jan. 2023.
- ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.
- ISMAN, M. B.; MACHIAL, C. M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. **Advances in phytomedicine**, v. 3, p.29-44, 2006.
- ITOIGAWA, M. *et al.* Cancer chemopreventive activity of phenylpropanoids and phytoquinoids from *Illicium* plants. **Cancer Letters**, v. 214, n. 2, p.165-169, 2004.

- JIROVETZ, L. *et al.* Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, 6303-6307, 2006.
- JONSSON, N. N.; MAYER, D. G. Estimation of the effects of buffalo fly (*Haematobia irritans exigua*) on the milk production of dairy cattle based on a meta-analysis of literature data. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, n. 4, p. 372-376, 1999.
- JUAN, L. W. *et al.* Chemical Composition and Fumigant Toxicity of the Essential Oils From 16 Species of *Eucalyptus* Against *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) Adults. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 3, p. 1087-1092, 2011.
- JUKIC, M. *et al.* *In vitro* acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 259-261, 2007.
- KANDA, D.; KAUR, S.; KOUL, O. A comparative study of monoterpenoids and phenylpropanoids from essential oils against stored grain insects: acute toxins or feeding deterrents. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 531-545, 2017.
- KANG, S. H. *et al.* Comparative repellency of essential oils Against *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 52, p. 353-359, 2009.
- KHANI KOR, B., BORA, D. Toxicity of essential oil compounds against *Exorista sorbillans* (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of silkworm. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 19807-19815, 2014.
- KIM, S. L. *et al.* Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2003.
- KLAUCK, V. *et al.* Insecticidal and repellent effects of tea tree and andiroba oils on flies associated with livestock. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. S1, p. 33-39, 2014.
- KRAFSUR, E. S.; ERNST, C. M. Physiological Age Composition and Reproductive Biology of Horn Fly Populations, *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae), in Iowa, USA. **Journal of Medical Entomology**, v. 20, n. 6, p. 664-669, 1983.
- KUNZ, S. E. *et al.* Biological and Ecological Investigations of Horn Flies in Central Texas: Influence of Time of Manure Deposition on Oviposition. **Journal of Economic Entomology**, v. 63, n. 3, p. 930-933, 1970.
- KUNZ, S. E.; KINZER, H. G.; MILLER, J. A. Areawide cattle treatments on populations of horn flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 76, p. 525-528, 1983.
- KUNZ, S. E. Dynamics of permethrin resistance in a colony of horn flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 28, n. 1, p. 63-66, 1991.

- KUNZ, S. E.; ESTRADA, M. O.; SANCHEZ, H. F. Status of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) Insecticide Resistance in Northeastern Mexico. **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 5, p. 726-729, 1995.
- KURAMOCHI, K. Ovipositional behavior of the horn fly (Diptera: Muscidae) in the field. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 3, p. 461-466, 2000.
- KUROKAWA, M. *et al.* Purification and characterization of eugenin as an anti-herpesvirus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 284, n. 2, p. 728-735, 1998.
- LACHANCE, S.; GRANGE, G. Repellent effectiveness of seven plant essential oils, sunflower oil and natural insecticides against horn flies on pastured dairy cows and heifers. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 2, p. 193-200, 2014.
- LAMBERT, M. M. *et al.* Atividade do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* e de seu principal constituinte eugenol na inibição do desenvolvimento de *Ctenocephalides felis felis* e no controle de adultos. **Parasitologia Veterinária**, v. 282, p.109126, 2020.
- LANCASTER, J. L., MEISCH, M. V. **Arthropods in livestock and poultry production**. Ellis Horwood, 1986.
- LEE, B. H. *et al.* Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 5, p. 553-564, 2004.
- LEE, S. J. *et al.* Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p.131-137, 2005.
- LEITE, R. C. *et al.* Primeiro relato de *Haematobia irritans* (L.)(Diptera: Muscidae) como vetor de *Dermatobia hominis* (L. jr.)(Diptera: Cuterebridae) em Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 761-762, 1998.
- LEMONS, T. L. *et al.* Antimicrobial activity of essential oil of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, v. 4, p. 82-84, 1990.
- LI, X.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 231-253, 2007.
- LIMA, L. G. F.; PRADO, A. P.; PERRI, S. H. V. Localização preferencial e índices diferenciados de infestação da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em bovinos da raça Nelore. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 25-32, 2002.
- LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. de. Influência dos Fatores Abióticos na Produção e Variabilidade de Terpenóides em Plantas. **Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 71-77, 2003.

LOI, D. T.; THU, N. V. Medicinal trees, pharmaceutical material and herbs in Vietnam. **Pharmacy College Publisher**, p. 209-211, 1970.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.

LUND, A. E.; NARAHASHI, T. Dose-dependent interaction of the pyrethroid isomers with sodium channels of squid axon membranes. **Neurotoxicology**, v. 3, n. 1, p. 11-24, 1982.

MACEDO, D. M.; BRITO, L. G.; BORJA, G. E. M. Emergência de *Haematobia irritans* em fezes bovinas no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 77-80, 2001.

MARICONI, F. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. São Paulo: Nobel, 1988. Tomo 1, 305 p.

MARLATT, C. L. **A Mosca do Chifre:(Haematobia Serrata Rob.-Desv)**. Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, Departamento de Entomologia, 1910.

MARQUES, L. *et al.* Primer diagnóstico de resistencia de *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) en Uruguay: determinación de susceptibilidad a cypermetrina y diazinon. **Veterinaria (Montevideo)**, v. 33, n. 133, p. 20-23, 1997.

MASON, K. V. *et al.* Fenthion for flea control on dogs under field conditions: dose response efficacy studies and effect on cholinesterase activity. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 20, n. 2, p. 591-595, 1984.

MASOTTI, V. *et al.* Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7115-7121, 2003.

MATOS, L. F. *et al.* Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112088, 2020.

MCDUFFIE, W. C. Current status of insecticide resistance in livestock pests. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 2, p. 49-54, 1960.

MCKENZIE, C. L.; BYFORD, R. L. Continuous, alternating, and mixed insecticides affect development of resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 86, n. 4, p. 1040-1048, 1993.

MCLINTOCK, J.; DEPNER, K. R. A review of the life history and habits of the horn fly, *Siphona irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **The Canadian Entomologist**, v. 86, p. 20-33, 1954.

MELO, L. R. B. **Determinação do número de gerações anuais e do período de desenvolvimento das formas imaturas de *Haematobia irritans* (Díptera: Muscidae) em massas fecais de bovinos Sindi no semiárido paraibano.** 2018. 60 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2018.

MELO, L. R. B. *et al.* Development and number of generations of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) in bovine fecal masses in the semiarid region of Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 20, 2020.

MILLER, J. A. *et al.* Methoprene for control of the horn fly: a sustained-release bolus formulation for cattle. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, n. 5, p. 589-591, 1977.

MILLER, J. A. *et al.* Atividade larvicida de Merck MK-933, uma avermectina, contra mosca dos chifres, mosca dos estábulos, mosca facial e mosca doméstica. **Journal of Economic Entomology**, v. 74, n. 5, p. 608-611, 1981.

MILLER, J. A. *et al.* Efeito da ivermectina na sobrevivência e fecundidade de moscas dos chifres e moscas dos estábulos (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 6, p. 1564-1569, 1986.

MILLER, J. A.; OEHLER, D. D.; SCHOLL, P. J. Moxidectin: pharmacokinetics and activity against horn flies (Diptera: Muscidae) and trichostrongyle nematode egg production. **Veterinary Parasitology**, v. 53, n. 1-2, p. 133-143, 1994.

MIRABALLES, C. *et al.* Efficiency of a walk-through fly trap for *Haematobia irritans* control in milking cows in Uruguay. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 10, p. 126-131, 2017.

MIRABALLES, C. *et al.* Susceptibility of field populations of *Haematobia irritans* to fipronil in Uruguay. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, e06821, 2021.

MOCHI, D. A. *et al.* Efficiency of entomopathogenic fungi in the control of eggs and larvae of the horn fly *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Veterinary Parasitology**, v. 167, n. 1, p. 62-66, 2010a.

MOCHI, D. A. *et al.* (2010b). Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 1-2, p. 105-110, 2010b.

MOHSENIPOUR, Z.; HASSANSHAHIAN, M. The inhibitory effect of *Thymus vulgaris* extracts on the planktonic form and biofilm structures of six human pathogenic bacteria. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 4, p. 309-318, 2015.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária.** 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370p.

- MONTEIRO, C. *et al.* Thymol and eugenol microemulsion for *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato control: Formulation development, field efficacy, and safety on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 296, p. 109501, 2021.
- MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com atividade inseticida. In: **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap. 19. p. 542-585.
- MORGAN, N. O. Autoecology of the adult horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Ecology**, v. 45, p. 728-736, 1964.
- MUTERO, A. *et al.* Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 13, p. 5922-5926, 1994.
- MWANGALA, F. S.; GALLOWAY, T. D. Susceptibility of horn flies, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae), to pyrethroids in Manitoba. **The Canadian Entomologist**, v. 125, n. 1, p. 47-53, 1993.
- NASCIMENTO, C. G. *et al.* Monitoramento da resistência de *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) a inseticidas no noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, supl. 1, p. 21-27, 2012.
- NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.
- NOLL, M. E. **The Control of Stomoxys Calcitrans (Stable Flies) with Essential Oils**. 2020. 66p. Dissertation (Master's degree). Faculty of Life Sciences, School of Biological Sciences - University of Bristol. 2020.
- OGATA, M. *et al.* Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 10, p. 1467-1469, 2000.
- OGUH, C. E. *et al.* Natural pesticides (biopesticides) and uses in pest management-a critical review. **Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering**, v. 2, n. 3, p. 1-18, 2019.
- OLIVEIRA, G. P. *et al.* Atividades do endectocidas abamectina, doramectina, moxidectina e ivermectina no controle do *Boophilus microplus* e da *Haematobia irritans* em bovinos, em São Carlos (SP). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 1, p. 41-52, 2006.
- OLIVEIRA, G. F. *et al.* Avaliação do piriproxifeno em bovinos por via oral: uma alternativa para o controle de *Haematobia irritans*. **Veterinary Parasitology**, v. 299, p.109565, 2021.
- OLIVEIRA, L. M. *et al.* *Ocimum gratissimum* essential oil and eugenol against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*: *In vitro* activity and residual

efficacy of a eugenol-based spray formulation. **Veterinary Parasitology**, v. 309, p. 109771, 2022.

OWENS W. E. *et al.* Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, p. 1122-1124, 1998.

OYARZÚN, M. P.; LI, A. Y.; FIGUEROA, C. C. High levels of insecticide resistance in introduced horn fly (Diptera: Muscidae) populations and implications for management. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 1, p. 258-265, 2011.

PAL, D. *et al.* Eugenol restricts DMBA croton oil induced skin carcinogenesis in mice: downregulation of c-Myc and H-ras, and activation of p53 dependent apoptotic pathway. **Journal of Dermatological Science**, v. 59, n. 1, p. 31-39, 2010.

PAOLI, S. D. *et al.* Effects of clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 175-182, 2007.

PASAY, C. *et al.* Acaricidal activity of eugenol based compounds against scabies mites. **PloS One**, v. 5, n. 8, p. e12079, 2010.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, n. 4, p. 316-323, 2006.

PEREIRA, M. C.; COSSI JUNIOR, O.; DIAS, A. M. S. Efficacy of some insecticides for control of the horn fly. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 31, n. 3-4, p. 186-190, 1994.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário das Plantas**. 2009. Disponível em: <<http://www.oleos essenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/>>. Acesso em: 18 jan. 2023.

PÉREZ, S. G. *et al.* Atividade de óleos essenciais como alternativa biorracional no controle de insetos coleópteros em grãos armazenados. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 25, p. 2827-2835, 2010.

PÉRINO-ISSARTIER, S. *et al.* A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 41-47, 2013.

PERRY, N. B. *et al.* Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2048-2054, 1999.

PRIESTLEY, C. M. *et al.* Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA(A) receptors and a homo-oligomeric GABA

receptor from *Drosophila melanogaster*. **British Journal of Pharmacology**, v. 140, p. 1363-1372, 2003.

PRIETO, O. H. *et al.* Mosca de los cuernos, *Haematobia irritans irritans* (L. 1758) (Diptera, Muscidae). Contribuciones para su conocimiento en la Argentina. IV. Relaciones con los hospedadores. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 75, n. 6, p. 469-476, 1994.

QUISENBERRY, S.S. *et al.* Pyrethroid resistance in the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 77, p. 1095-1098, 1984.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of stored products Research**, v. 44, n. 2, p. 126-135, 2008.

RAMSEY, J. T. *et al.* Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 2, p. 291, 2020.

RAUH, J. J.; LUMMIS, S. C. R; SATTELLE, D. B. Pharmacological and biochemical properties of insect GABA receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 11, n. 8, p. 325-329, 1990.

RAVETON, M. *et al.* Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. **Chemosphere**, v. 69, n. 7, p. 1124-1129, 2007.

REDDY, V. P. *et al.* Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. **Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 164, p. 2167-2172, 2014.

RIBEIRO-SANTOS, R. *et al.* Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 201-210, 2017.

RODRIGUES, S.R.; MARCHINI, L. C. Estudo de temperaturas em massas fecais de bovinos e previsão do número de gerações anuais de *Haematobia irritans* (Diptera, Muscidae), em Piracicaba, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 45, n. 2, p. 89-94, 2001.

ROTILI, D. A. *et al.* Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 288-294, 2012.

ROSHAN, V.; BAHMANZADEGAN, A.; SAHARKHIZ, M. J. Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. **Industrial Crops and Products**, v.49, p. 97-101, 2013.

SAKURAI, F.N. *et al.* Caracterização das propriedades funcionais das ervas aromáticas utilizadas em um hospital especializado em cardiopneumologia. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 4, p. 1097-1113, 2016.



- SALAS, R. Z. *et al.* Tripanossomíase bovina na ganadería lechera de trópico alto: primer informe de *Haematobia irritans* como principal vetor de *T. vivax* e *T. evansi* na Colômbia. **Revista de Medicina Veterinária**, n. 33, p. 21-34, 2017.
- SANCHEZ-SANDOVAL, U. A. *et al.* The Effect of Horn Fly (Diptera: Muscidae) Infestation on Behavior, Water and Feed Intake, and Digestion Characteristics of Beef Bovin. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 1, p. 365-370, 2022.
- SANDERS, D. P.; DOBSON, R. C. Contributions to the Biology of the Horn Fly. **Journal of Economic Entomology**, v. 62, n. 6, p. 1362-1366, 1969.
- SANTIN, J. R. *et al.* Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 383, n. 2, p. 149-158, 2011.
- SANTORO, G. F. *et al.* Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. **Parasitology Research**, v. 100, n. 4, p. 783-790, 2007.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5. ed., Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004.
- SANTOS, C. H. da S.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, p. 1-8, 2017.
- SARTOR, I.F.; BICUDO, P.L. Agentes empregados no controle de ectoparasitas. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.480-492.
- SAUERESSIG, T. M.; BARROS, A. T. **Diagnóstico da susceptibilidade de populações da mosca-dos-chifres a inseticidas em Goiás, Tocantins e Distrito Federal**. Planaltina: Embrapa Cerrados; 2003. 16 p. (Embrapa Cerrados, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 82)
- SCHMIDT, C. D. Activity of an avermectin against selected insects in aging manure. **Environmental Entomology**, v. 12, n. 2, p. 455-457, 1983.
- SCHREIBER, E. T.; CAMPBELL, J. B. Horn fly (Diptera: Muscidae) distribution on cattle as influenced by host color and time of day. **Environmental entomology**, v. 15, n. 6, p. 1307-1309, 1986.
- SCOTT, F. B.; COUMENDOUROS, K.; GRISI, L. Avaliação *in vitro* da susceptibilidade da *Haematobia irritans* a alguns inseticidas no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 3, n. 2, p. 83-85, 1994.
- SERRA-FREIRE, N. M.; MELLO, R. P. **Entomologia e acarologia na medicina veterinária**. Rio de Janeiro: LF Livros, 2006.

- SHEPPARD, C. Stirofos resistance in a population of horn flies. **Journal of the Georgia Entomological Society**, v. 18, n. 3, p. 370-376, 1983.
- SHEPPARD, D.C. Fenvalerate and flucythrinate resistance in a horn fly population. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 1, p. 305-310, 1984.
- SHEPPARD, D.C.; HINKLE, N. C. A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 4, 87-89, 1987.
- SHOOP, W. L. *et al.* Eprinomectin: a novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 11, p. 1237-1242, 1996.
- SHUKRI, R.; MOHAMED, S.; MUSTAPHA, N. M. Cloves protect the heart, liver and lens of diabetic rats. **Food chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1116-1121, 2010.
- SILVA, L. V. D.; RUE, M. L. D. L.; GRAÇA, D. L. Lesões da mosca dos chifres (*Haematobia irritans* Linnaeus, 1758) na pele de bovinos e impacto na indústria do couro. **Ciência Rural**, v. 32, p. 1039-1043, 2002.
- SILVESTRE, A. J. D. *et al.* Analysis of the variation of the essential oil composition of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 6, p. 27-33, 1997.
- SILVESTRI, J. D. F. *et al.* Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589-594, 2010.
- SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5. ed., Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004.
- SINTHUSIRI, J.; SOONWERA, M. Efficacy of herbal essential oils as insecticides against the housefly, *Musca domestica* L. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 44, n. 2, p. 188-196, 2013.
- SINTHUSIRI, J.; SOONWERA, M. Oviposition deterrent and ovicidal activities of seven herbal essential oils against female adults of housefly, *Musca domestica* L. **Parasitology research**, v. 113, n. 8, p. 3015-3022, 2014.
- SODERLUND, D. M.; BLOOMQUIST, J. R. Molecular mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochemistry**, v. 20, n. 7, p. 383-390, 1990.
- SOLOMON, B. *et al.* Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 1, p. 61-66, 2012.
- SOUZA, A. A. *et al.* Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 105-112, 2016.

- SPECIAN, V.; DE OLIVEIRA, R. C.; DE SOUZA DINIZ, S. P. S. Atividade do Óleo Essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) Contra Fungos Fitopatogênicos. **Jornal de Ciências da Saúde**, v. 11, n. 4, 2009.
- STEELMAN, C. D. *et al.* Interactive response of the horn fly (Diptera: Muscidae) and selected breeds of beef cattle. **Journal of economic entomology**, v. 84, n. 4, p. 1275-1282, 1991.
- SUN, L. *et al.* The essential oil from the twigs of *Cinnamomum cassia* Presl alleviates pain and inflammation in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 904-912, 2016.
- SUN, L. *et al.*  $\alpha$ -pinene, caryophyllene and  $\beta$ -myrcene from *Peucedanum terebinthaceum* essential oil: Insecticidal and repellent effects on three stored-product insects. **Records of Natural Products**, v. 14, n. 3, p. 189, 2020.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos Secundários e Defesa Vegetal. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820 p.
- TAJUDDIN *et al.* Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry. (clove) on sexual behaviour of normal male rats. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 4, n. 17, 2004.
- TAYLOR, M. A. Recent Developments in Ectoparasitocides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 253–268, 2001.
- TAYLOR, M. A. *et al.* **Parasitologia Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 965 p.
- THACKER, J. M. R. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 343 p.
- TINGLE, C. C. D. *et al.* Health and environmental effects of fipronil. **Briefing paper for Pesticides Action Network**, v. 22, p. 103-118, 2000.
- URQUHART, G. M. *et al.* **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara. 1998.
- UZUKA, Y. *et al.* Chemical control of *Haematobia irritans* with 0.5% topical ivermectin solution in cattle. **Journal of veterinary medical science**, v. 61, n. 3, p. p. 287-289, 1999.
- VALÉRIO, J. R.; GUIMARÃES, J. H. Sobre a ocorrência de uma nova praga, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera, Muscidae), no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 4, p. 417-418, 1983.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. Una generalización del sistema de índice de retención incluyendo cromatografía de partición programada gaslíquido de temperatura lineal. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

- VELASCO, R. *et al.* Daño económico y costos de control en bovinos mosca de los cuernos. **Informativo Agropecuario Bioleche INIA Quilamapu**, v. 14, p. 4-7, 2001.
- VERGHESE, J. The world of spices and herbs. **Spice India**, v. 11, n. 4, p. 15-18, 1988.
- VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5. ed., Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004.
- WANG, G. W. *et al.* *Illicium verum*: uma revisão sobre sua botânica, uso tradicional, química e farmacologia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 1, p. 10-20, 2011.
- WATSON, D. W. *et al.* Managing the horn fly (Diptera: Muscidae) using an electric walk-through fly trap. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 5, p. 1113-1118, 2002.
- WILLIAMS, R. E.; WESTBY, E. J. Evaluation of pyrethroids impregnated in cattle ear tags for control of face flies and horn flies. **Journal of Economic Entomology**, v. 73, n. 6, p. 791-792, 1980.
- WILLIAMS, R. E. Controle químico, prejuízos econômicos e estratégias de controle. In: Simpósio Internacional sobre mosca dos chifres (*Haematobia irritans*), 1., 1991. **Anais...** São Paulo: USP, 1991.
- WISLOW, R. B. Reguladores de crescimento de insetos e controle da mosca dos chifres. **A Hora Veterinária**, v. 11, n. 65, p. 38-40, 1992.
- YANG, X. Q. *et al.* Essential oil of cinnamon exerts anti-cancer activity against head and neck squamous cell carcinoma via attenuating epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase. **Journal of Balkan Union of Oncology**, v. 20, p. 1518-1525, 2015.
- YEOM, H. J. *et al.* Fumigant and contact toxicity of Myrtaceae plant essential oils and blends of their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*) and their acetylcholinesterase inhibitory activity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, n. 2, p. 200-206, 2013.
- YOUSEFI, M. *et al.* Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. **Aquaculture**, v. 495, p. 376-383, 2018.
- ZHANG, C. *et al.* *Cinnamomum cassia* Presl: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **Molecules**, v. 24, n. 19, p. 3473, 2019.
- ZHU, J. J. *et al.* Comparisons of antifeedancy and spatial repellency of three natural product repellents against horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Pest Management Science**, v. 71, n. 11, p. 1553-1560, 2015.
- ZUMPT, F. The Stomoxyine biting flies of the world. Diptera: Muscidae. **Taxonomy, biology, economic importance and control measures**, 1973.

## ANEXOS

### Anexo A – Comprovante de submissão de proposta à Comissão de Ética no Uso de Animais



**UFRRJ**  
Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**  
Instituto de Veterinária



Seropédica, 27 de maio de 2022  
CEUA N 8965270522

#### COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE PROPOSTA À COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CPF: 001.382.167-97

Título do projeto: Atividade inseticida in vitro de Óleos essenciais sobre adultos de "Haematobia irritans"

Responsável: Fabio Barbour Scott

Equipe: Diefrey Ribeiro Campos, Barbara Rauta de Avelar, Gabriela Ferreira de Oliveira, Thiago de Souza Vieira, Brena Gava Guimarães

Telefone: 9922492333

e-mail: scott.fabio@gmail.com

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, avaliará os documentos seguindo calendário de reuniões vigentes. Todo o processo poderá ser acompanhado no sistema (<https://ceua.ufrrj.br/>) por meio da sua senha de acesso.

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Viviane de Souza Magalhães  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro