

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

TESE

**Atividade inseticida *in vitro* de *Schinus molle* L. sobre *Ctenocephalides felis felis*
(Bouche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista

2016



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

**ATIVIDADE INSETICIDA *in vitro* DE *Schinus molle* L. SOBRE
Ctenocephalides felis felis (BOUCHE, 1835)
(SIPHONAPTERA: PULICIDAE)**

LILIAN CRISTINA DE SOUSA OLIVEIRA BATISTA

Sob a Orientação da Professora
Katherina Coumendouros

e Co-orientação do Professor
Douglas Siqueira de Almeida Chaves

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutora em Ciências, no Curso
de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias

Seropédica, RJ
Março de 2016

595.775

B333a

T

Batista, Lilian Cristina de Sousa
Oliveira, 1986-

Atividade inseticida *in vitro* de
Schinus molle L. sobre *Ctenocephalides*
felis felis (Bouche, 1835)
(Siphonaptera: Pulicidae) / Lilian
Cristina de Sousa Oliveira Batista -
2016.

73 f.: il.

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

Bibliografia: f. 53-71.

1. Pulga - Teses. 2. Pulga - Controle
biológico - Teses. 3. Inseticidas
vegetais - Teses. 4. Terpenos - Teses.
I. Coumendouros, Katherina, 1968-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias. III. Título.

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

LILIAN CRISTINA DE SOUSA OLIVEIRA BATISTA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 18/03/2016



Katherina Coumeiduros. Dra. UFRRJ
(orientadora)



Clélia Christina Mello Silva Almeida da Costa. Dra. FIOCRUZ



Yara Peluso Cid. Dra. UFRRJ



Raquel Moreira Pires dos Santos Melo. Dra. UFSJ



Angelica Ribeiro Soares. Dra. UFRJ

Aos meus pais, meus amores, minha alegria...

“A persistência é o caminho do êxito.”
Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido sabedoria, paciência, discernimento e prudência, renovando a minha fé a cada dia, fazendo com que eu superasse todos os obstáculos e desse de mim o melhor possível com ética e profissionalismo.

Aos meus pais, Luiz Batista e Leonice Batista, por orientarem o meu caminho, feito de lutas e incertezas, mas também de muitas esperanças e sonhos. Agradeço por me ensinarem os valores da vida, por estarem sempre ao meu lado me incentivando e por serem sempre presentes, amáveis e amigos.

Ao meu amor, melhor amigo e companheiro de todas as horas, Filipe Cirne, que por meio da sua paciência e compreensão, me trouxe a tranquilidade que precisava nos momentos de escrita de tese. Obrigada por me mostrar o quanto a vida pode ser mais bonita!

A minha amiga Cristiane Nunes, “Cris”, pela companhia e apoio no laboratório, e especialmente, pela linda e eterna amizade que construímos dia após dia no decorrer desses anos. Agradeço por partilhar comigo minhas alegrias e também estar do meu lado naqueles momentos em que mais precisei de um ombro amigo.

A minha querida orientadora Katherina Coumendouros pelo carinho, pela oportunidade de ser sua orientada e por estar sempre disposta a ajudar e tirar minhas dúvidas quanto à execução dos trabalhos realizados.

Ao meu co-orientador Douglas Siqueira de Almeida Chaves, pela amizade construída, pelas orientações, incentivo e assistência à execução de todas as etapas do trabalho.

Ao professor Fabio Barbour Scott, que com seus “puxões de orelha” me fez crescer. Agradeço pela oportunidade desde o estágio, pela amizade, incentivo e por me ouvir nos momentos difíceis.

Aos meus familiares pelo apoio, incentivo e por vibrarem a cada conquista minha.

Aos amigos queridos que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e também naqueles onde precisei daquele “ombro amigo”.

Aos meus primos Caio Paiva e Roberta Paiva, por estarem sempre comigo e deixarem meus dias mais felizes.

Aos colegas do LQEPV pelos momentos compartilhados e especialmente àqueles que se tornaram grandes amigos e entenderam quando precisei me ausentar. Não vou citar nomes para não correr o risco de esquecer alguém, não porque não sejam importantes, mas porque a equipe é realmente muito grande.

A professora Yara Peluso Cid pela grande contribuição e participação neste trabalho, pela atenção e disponibilidade em ajudar.

Aos membros do setor de Farmacométria do LQEPV, que tanto me ajudaram nas preparações utilizadas nesse trabalho.

A professora Thais Ribeiro Correia Azevedo, pelo conhecimento transmitido e por permitir a utilização da colônia de *C. felis felis* para que esse trabalho fosse realizado.

A Secretária, em especial Arthur Santiago Junior, sempre muito atencioso e gentil.

Ao coordenador e professor José Luis Fernando Luque Alejo, uma pessoa querida, um grande incentivador

Aos Professores do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Apoio a Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (FAPUR) pelo apoio financeiro.

A todos que ajudaram até aqui!

BIOGRAFIA

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista, filha de Luiz Lazarino Dornelas Batista e Leonice de Sousa Oliveira Batista, nasceu ao dia 06 de novembro de 1986, no município de Valença, Rio de Janeiro. Coursou o ensino fundamental e médio no Instituto de Educação Deputado Luiz Pinto na mesma cidade onde nasceu.

Em 2005 ingressou no curso de Medicina Veterinária no Centro de Ensino Superior de Valença, graduando-se em agosto de 2009. Atuou como monitora das disciplinas de Parasitologia Animal I e II nos anos de 2007 e 2008, sob a orientação do professor Ian Phillipou Tancredi.

No ano de 2010 realizou aperfeiçoamento técnico no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e em 2011 ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – área de concentração: Parasitologia Veterinária, da mesma universidade, em nível de mestrado. Foi bolsista CNPq de março de 2011 a fevereiro de 2012 e em março de 2012 foi contemplada com a Bolsa Nota 10 da FAPERJ, sob a orientação da professora Katherina Coumendouros e co-orientação do professor Fabio Barbour Scott.

Em 2013 foi aprovada no processo seletivo para o doutorado no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, sob a orientação da professora Katherina Coumendouros e co-orientação do professor Douglas Siqueira de Almeida Chaves, dando início a uma nova etapa importante na vida acadêmica.

Ainda em 2013 ingressou como professora no Centro de Ensino Superior de Valença onde atualmente trabalha como Assessora de Ensino, Pesquisa e Extensão e leciona disciplinas no curso de Medicina Veterinária e Medicina.

RESUMO

BATISTA, Lilian Cristina de Sousa Oliveira. **Atividade inseticida *in vitro* de *Schinus molle* L. sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2016. 72p. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

As pulgas são insetos de grande importância na medicina veterinária, capazes de provocar desconforto aos animais hospedeiros devido a espoliação sanguínea, atuando como vetor de diversos patógenos, podendo provocar prurido intenso, automutilação e anemia. Tem grande importância na saúde pública pela capacidade de transmitir agentes patogênicos ao homem e provocar incômodo, e reações alérgicas. Para o controle de vetores a abordagem mais adequada é um programa de manejo integrado, buscando o controle adequado, substâncias que ofereçam maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e menor impacto ambiental. Uma alternativa que vem sendo retomada, para o manejo integrado de pragas, é o uso de metabólitos secundários de origem vegetal. A aroeira mansa ou aroeira salsa, espécie *Schinus molle* L., contém óleos essenciais e constituintes fixos que são utilizados na medicina popular. Diferentes ações como: antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, inseticida e repelente foram relatadas popularmente e cientificamente. O objetivo deste trabalho foi extrair, determinar a composição química e avaliar a atividade inseticida *in vitro* de extratos e óleos essenciais de folhas e frutos de *S. molle*, sobre adultos e na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *C. felis felis*. Extratos em hexano, acetato de etila e metanol foram obtidos, por extração em soxhlet, de folhas. Óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação, a partir de folhas e frutos. Todos os extratos e óleos foram caracterizados quimicamente; os extratos fixos foram avaliados *in vitro* frente à adultos da pulga *C. felis felis*, e os constituintes voláteis frente às formas imaturas e adultas. Em ambos experimentos foi utilizada a metodologia de impregnação em tiras de papel filtro. As principais substâncias identificadas no extrato hexano foram espatulenol, óxido de cariofileno, 14-heptadecenal, n-octadecanal, Z-2 octadecen-1-ol, octadecil-vinil-éter, lupenona e lupeol. No óleo essencial de folhas os principais constituintes foram espatulenol e cubenol (sesquiterpenos); e nos frutos foram terpinol e mirtenal (monoterpenos), e espatulenol. O extrato hexânico mostrou uma resposta linear com o aumento da concentração, alcançando 100% de eficácia na concentração de 800 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ no tempo de 48h. Já os demais extratos não apresentaram atividade sobre *C. felis felis*. O óleo do fruto atingiu 100% de eficácia apenas com a concentração de 800 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ enquanto o óleo da folha atingiu 100% de eficácia com 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Óleos essenciais obtidos das folhas e frutos de *S. molle* apresentaram baixa eficácia na interrupção do desenvolvimento ovo-adulto de *C. felis felis*, apresentando eficácia máxima de 10,53%. *S. molle* mostrou ser eficaz, *in vitro*, no controle de formas adultas de *C. felis felis*, representando uma ferramenta auxiliar para o controle de pulgas.

Palavras-chave: pulga, aroeira, terpenos.

ABSTRACT

BATISTA, Lilian Cristina de Sousa Oliveira. *In vitro* insecticidal activity of *Schinus molle* L. on *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). 2016. 72p. Thesis (Doctor in Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Fleas are insects with great veterinary importance, by causing blood spoliation and anemia to host animals as well as discomfort due to intense itching, to the point of provoking self-mutilation. They also are threats to public health due to their ability to transmit pathogenic agents to humans and cause allergic reactions and irritation. The best way to control fleas is through integrated management employing substances that are safe, selective and biodegradable. An approach that has been investigated in this respect is the application of secondary metabolites of plant origin. The Peruvian pepper tree (*Schinus molle* L.) contains essential oils and fixed constituents that are widely used in folk medicine. These substances have been found to have antibacterial, anti-inflammatory, antiseptic, insecticidal and repellent activities, among others. The objective of this study was to extract, determine the chemical composition and assess the insecticidal activity *in vitro* of extracts and essential oils obtained from *S. molle*, leaves and fruits on adult cat fleas (*C. felis felis*), as well as on interruption of egg development. Extracts were obtained from the leaves in a Soxhlet extractor using hexane, ethyl acetate and methanol. Essential oils were obtained by hydrodistillation from leaves and fruits. All the extracts and oils were chemically characterized. The fixed extracts were evaluated *in vitro* against adult fleas and the volatile constituents were tested against immature forms and adults. The filter paper impregnation method was used in both experiments. The main substances identified in the hexane extract were espatulenol, caryophyllene oxide, 14-heptadecenal, n-octadecanal, Z-2 octadecen-1-ol, octadecyl vinyl ether, lupenone and lupeol. In the essential oil from the leaves, the main constituents were espatulenol and cubenol (sesquiterpenes), while that from the fruits contained terpinol and myrtenol (monoterpenes) and espatulenol. The hexane extract had a linear effect with increasing concentration, reaching 100% efficacy at a concentration of 800 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ after 48 h. The other extracts were not active against *C. felis felis*. The oil from the fruits attained 100% efficacy only at the concentration of 800 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ while the oil from the leaves was 100% effective at 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Essential oils obtained from the leaves and fruits of *S. molle* presented low efficacy in interrupting the egg-adult development of *C. felis felis*, with maximum efficacy of 10.53%. *S. molle* was effective *in vitro* in controlling adult forms of *C. felis felis*, so it can be an alternative for control of these fleas.

Keywords: flea, aroeira, terpene.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais substâncias obtidas, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de Massas, no extrato hexânico de <i>S. molle</i>	38
Tabela 2. Perfil químico do óleo essencial de <i>S. molle</i> obtido por hidrodestilação de folhas e frutos secos à temperatura ambiente protegido da luz e umidade.	41
Tabela 3. Percentuais de mortalidade de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 24h e 48h após teste de impregnação em papel filtro com extratos hexano (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol de <i>Schinus molle</i> (SmM).	45
Tabela 4. Percentual de mortalidade e eficácia do óleo essencial de folhas e frutos de <i>Schinus molle</i> sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> , 24h e 48h após teste de impregnação em papel filtro.	47
Tabela 5. Número médio de pulgas adultas recuperadas 30 dias após teste com fruto e folha de <i>Schinus molle</i> , e eficácia <i>in vitro</i> na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árvore (A), folhas, flores (B) e frutos de <i>S. molle</i> (C).	31
Figura 2. Gráfico de subtração do óleo essencial <i>Schinus molle</i> obtido por hidrodestilação das folhas (acima) e frutos (abaixo), considerando-se a diferença (subtração) dos mesmos componentes (ou mesmo tempo de retenção). Os números na ordem de eluição são listados na Tabela 2.	42

LISTA DE ABREVIACOES

DDT	Diclorodifeniltricloroetano
RCA	Regulador de Crescimento de Artropodes
RCI	Regulador de Crescimento dos Insetos
IGR	Insect Growth Regulator
AGR	Arthropod Growth Regulator
AChE	Acetilcolinesterase
GABA	cido gama-aminobutírico
BHE	Barreira hematoencefálica
OMS	Organização Mundial da Saúde
ISO	International Organization for Standardization
LQEPV	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
DAP	Departamento de Parasitologia Animal
IV	Instituto de Veterinária
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
LQBioN	Laboratório de Química de Bioativos Naturais
DeQuim	Departamento de Química
ICE	Instituto de Ciências Exatas
DBO	Demanda Bioquímica de Oxignio
WAAVP	Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária
OE	leo essencial
ISO	International Standard Organization
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
TR	Tempo de retenção
IR	ndice de retenção
SmH	Extrato hexânico
SmAe	Extrato acetato de etila
SmM	Extrato metanlico
OEFO	leo essencial da folha
OEFr	leo essencial do fruto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Classificação e Distribuição da Pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i>	16
2.2. Biologia e Importância de <i>C. felis felis</i>	16
2.3 Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	18
2.4 Controle Mecânico	18
2.5 Controle Químico	19
2.5.1 Controle químico com inseticidas de origem sintética.....	20
2.5.1.1 Diclorodifeniltricloroetano (DDT)	20
2.5.1.2 Carbamatos e organofosforados	21
2.5.1.3 Fenilpirazois	21
2.5.1.4 Reguladores de Crescimento de Artrópodes (RCA).....	22
2.5.2 Controle químico com inseticidas de origem sintética.....	22
2.5.2.1 Piretroides	22
2.5.2.2 Neonicotinoides	23
2.5.2.3 Lactonas macrocíclicas.....	24
2.6 Controle Biológico	24
2.7 Controle A Partir de Inseticidas Botânicos.....	25
2.7.1 Principais plantas com atividade inseticida	28
2.7.1.1 Família Anacardiaceae	29
2.7.1.2 <i>Schinus molle</i> Linneu.....	31
2.8 O Fenômeno de Resistência	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Local do Estudo	34
3.2 Obtenção de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	34
3.3 Obtenção do Material Vegetal	34
3.3.1 Obtenção de constituintes fixos e voláteis de <i>S. molle</i>	34
3.3.2 Análise de constituintes fixos e voláteis de <i>S. molle</i>	35
3.4 Delineamento Experimental	35
3.4.1 Atividade inseticida <i>in vitro</i> dos extratos de folhas (<i>n</i> -hexano, acetato de etila e metanol) de <i>S. molle</i> sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	35

3.4.2. Atividade inseticida <i>in vitro</i> dos óleos essenciais obtidos de folhas e frutos de <i>S. molle</i> sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	36
3.4.3 Atividade <i>in vitro</i> de óleos essenciais obtidos de folhas e frutos de <i>S. molle</i> sobre ovos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	36
3.5 Cálculo de Eficácia, da Dose Letal 50 (DL ₅₀) e Análise Estatística.....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1. Caracterização Química.....	38
4.1.1 Extratos hexânico (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol (SmM) de <i>S. molle</i>	38
4.1.2. Óleo essencial de folhas (OEFo) e frutos (OEFr).....	39
4.2 Atividade Inseticida <i>In Vitro</i> dos Extratos de Folhas (<i>n</i> -hexano, acetato de etila e metanol) de <i>S. molle</i> Sobre Adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	44
4.3 Atividade Inseticida <i>In Vitro</i> dos Óleos Essenciais Obtidos de Folhas e Frutos de <i>S. molle</i> Sobre Adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	46
4.4 Atividade <i>In Vitro</i> de Óleos Essenciais Obtidos de Folhas e Frutos de <i>S. Molle</i> Sobre a Interrupção do Desenvolvimento Ovo-Adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	48
5 CONCLUSÃO.....	52
6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	53
8 ANEXOS	72
8.1 Produção científica entre março de 2013 e fevereiro de 2016.	72
8.2. Artigo sobre a tese publicado em janeiro de 2016	72

1 INTRODUÇÃO

O cuidado e o bem estar animal têm sido cada vez mais exigidos na sociedade humana, onde os animais cumprem funções como companhia, auxílio na locomoção e segurança de pessoas e/ou domicílios, entre outras (LIMONGI, 2013).

As pulgas são insetos de grande importância na medicina veterinária, capazes de provocar desconforto aos animais devido a espoliação sanguínea, atuar como vetor de diversos patógenos, promover prurido intenso, automutilação e anemia (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). São também importantes em saúde pública pela capacidade de transmitir agentes patogênicos ao homem e provocar incômodo, ou mesmo reações alérgicas (RUST; DRYDEN, 1997; EISEN et al., 2008).

Dentro da família Pulicidae a subespécie *Ctenocephalides felis felis*, única encontrada nas Américas, é um dos ectoparasitas de cães e gatos com maior importância econômica no mundo (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

No Brasil, é a pulga mais importante em animais de estimação, devido a sua distribuição geográfica, competência vetorial (LINARDI; SANTOS, 2012) e número de outros hospedeiros parasitados como bovinos, caprinos, equinos, ovinos, entre outros (BICHO; RIBEIRO, 1998; PEREIRA et al., 2012).

Estima-se que mais da metade dos casos dermatológicos atendidos em clínicas veterinárias, em cães e gatos, estão relacionados a irritação causada pela picada desses insetos, conhecida como dermatite alérgica (RUST; DRYDEN, 1997).

Para o controle de vetores a abordagem mais adequada envolve a utilização de várias ferramentas disponíveis em um programa de manejo integrado, buscando o tipo de controle adequado, substâncias que ofereçam maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e menor impacto ambiental.

Tradicionalmente, o controle de pulgas é realizado apenas com o uso de inseticidas ao invés de se complementar com outras medidas como o mecânico (OTRANTO; WALL, 2008). O uso abusivo de inseticidas tem causado altos níveis de resistência e grande impacto ambiental, o que justifica a necessidade de busca por novos ativos parasiticidas (TAYLOR et al., 2007; ELLSE, WALL, 2014).

O Brasil abriga uma grande diversidade vegetal que pode ser estudada visando a identificação de plantas que possam atuar como inseticidas. Possui a flora mais rica do mundo, com cerca de 55 mil espécies de plantas superiores (aproximadamente 22% do total mundial) (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2000). Entretanto, mesmo apresentando a maior diversidade vegetal do mundo, uma pequena parcela de espécies no país são estudadas para pesquisas de compostos bioativos (BRASIL, 2006).

Inseticidas botânicos têm sido apontados como potenciais alternativas ao uso de inseticidas sintéticos convencionais, presumivelmente porque os produtos naturais teriam menores impactos sobre a saúde humana e ao ambiente (ISMAN et al., 2011).

Por meio do desenvolvimento de métodos extrativos e o processamento dos extratos e óleos obtidos a partir de plantas é possível isolar princípios ativos que, de forma isolada ou em sinergismo, apresentam grande importância para saúde humana e animal, bem como para diversos ramos da indústria mundial (LAHLOU, 2004).

A família Anacardiaceae, dentre muitas outras existentes, é amplamente representada por várias espécies de importância econômica que são produtoras de óleos essenciais. Vários estudos são realizados a partir de espécimes dessa família e em alguns pode-se verificar atividade antimicrobiana e inseticida (CORREIA et al., 2006).

A espécie *Schinus molle* L., popularmente conhecida como aroeira salsa ou aroeira mansa é uma espécie nativa do sul do Brasil utilizada na medicina popular, como cicatrizante,

analgésico, purgativo, antipirético, anti-inflamatório, entre outros (CRUZ, 1995; LORENZI; MATOS, 2008). Além desse uso, existem relatos sobre a atividade inseticida e repelente de óleos essenciais de *S. molle* L. (DEVECI et al., 2010; LJALEM; UNNITHAN, 2014; FERNANDES; FAVERO, 2014). A análise fitoquímica mostra que o óleo essencial desta espécie é rico em substâncias utilizadas no controle pulgas, como mono e sesquiterpenos. (IBRAHIM et al., 2001; LORENZI; MATOS, 2008).

O objetivo deste trabalho foi realizar a extração, determinar a composição química e avaliar a atividade inseticida *in vitro* de extratos e óleos essenciais de folhas e frutos de *S. molle*, sobre adultos e na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *C. felis felis*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação e Distribuição da Pulga *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas são pequenos insetos que apresentam uma história evolutiva de 60 milhões de anos, sendo já encontrados em mamíferos pré-históricos. Taxonomicamente estão incluídas no Filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Siphonaptera (RUST, 2005).

São insetos hematófagos, ápteros, achatados lateralmente, apresentando aproximadamente três milímetros (3mm) de comprimento (LINARDI, 2004). Na fase adulta apresentam coloração entre o marrom escuro e médio e o terceiro par de patas adaptadas ao salto (SLOSS, 1999).

Aproximadamente 3000 espécies e/ou subespécies foram catalogadas (LEWIS, 1998), sendo encontradas em todo o mundo. No Brasil, oito diferentes famílias foram assinaladas, sendo do ponto de vista epidemiológico, as espécies *Pulex irritans*, *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis* da família Pulicidae; *Tunga penetrans* (Tungidae), e as incluídas no gênero *Polygenis* (Rhopalopsyllidae), as que merecem maior atenção (LINARDI, 2004).

Na América do Norte e sudeste da África as pulgas são os parasitas mais comumente encontrados em cães e gatos (RUST; DRYDEN, 1997)

As espécies de *Ctenocephalides* podem infestar um grande número de hospedeiros, incluindo carnívoros, lagomorfos, marsupiais, primatas, roedores e ungulados, sendo *C. felis* a mais comum em cães e gatos em todo o mundo (LINARDI; SANTOS, 2012).

A única subespécie encontrada no continente americano (DRYDEN, 1993) é *C. felis felis* (Bouché, 1835), esta é mais adaptável do que *C. canis*, uma vez que infesta um maior número de hospedeiros (COLES; DRYDEN, 2014). Outras subespécies como *C. felis strongylus* e *C. felis damarensis* foram reportadas na África (FAGBEMI, 1982; HORAK et al., 2004) e *C. felis orientis* na Índia e Austrália (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

2.2. Biologia e Importância de *C. felis felis*

As pulgas são insetos que possuem metamorfose completa, sendo seu ciclo biológico dividido em quatro estágios: ovo, larva com três estádios, pupa e adulto, apresentando estágios de vida livre (estádios imaturos) e parasitária (estágio adulto) (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Uma exceção é *Tunga penetrans* que apresenta apenas dois estádios larvários (LINARDI, 2004).

Uma vez sobre o hospedeiro o inseto inicia a hematofagia, com o acasalamento ocorrendo dentro das primeiras oito e 32 horas (DRYDEN; RUST, 1994). Pouco tempo depois da cópula ocorre a primeira postura (COSTA-LIMA, 1943), onde cada fêmea é capaz de produzir cerca de 30 ovos por dia (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Os ovos são ovoides ou elipsoidais e esbranquiçados, medem entre 300 e 700 µm e são depositados nos locais onde os hospedeiros passam mais tempo. A eclosão das larvas ocorre entre dois dias a duas semanas, dependendo da temperatura ambiental. Estas são eucéfalas, vermiformes, ápodas e esbranquiçadas, com aparelho bucal mastigador e de um modo geral, vivem livremente nas tocas e ninhos de seus hospedeiros, podendo ser encontradas em frestas cobertas, entrelaçados no tecido de carpetes e estofados, embaixo de móveis e dentro de fendas e rachaduras e alimentam-se de detritos orgânicos, fezes e sangue seco provenientes das pulgas adultas recém alimentadas, o que lhes confere a cor avermelhada (DRYDEN; RUST, 1994; CARLOTTI; JACOBS, 2000; LINARDI, 2004).

A larva sofre duas mudas e após sete a 14 dias de vida ativa, a larva de terceiro estágio, forma um casulo oval, pegajoso, que facilmente adere a qualquer suporte, retendo também partículas de poeira, dando início à fase de pupa. Esta fase dura geralmente de sete a 10 dias podendo prolongar-se por mais tempo (SILVERMAN; RUST, 1985). Atingida a fase adulta, a pulga fica algum tempo dentro do casulo, podendo permanecer, se não a perturbarem, durante algumas semanas (COSTA-LIMA, 1943). Alguns fatores como pressão mecânica, o deslocamento dos hospedeiros nas proximidades, pisoteio sobre os casulos, aquecimento e luminosidade estimulam a emergência dos adultos (SILVERMAN; RUST, 1985; LINARDI et al., 1997).

Na fase adulta, pulgas de ambos os sexos realizam hematofagismo, alimentam-se com seus estiletos perfurantes diretamente dos vasos sanguíneos, tanto durante o dia quanto à noite (DRYDEN; RUST, 1994).

O ciclo de *C. felis felis* pode se completar em 12 a 14 dias, ou se estender por até 174 dias, dependendo da temperatura, umidade e alimentação obtida pelas larvas. No entanto, na maioria das condições domésticas, quase todas as pulgas completam o seu ciclo de vida dentro de três a oito semanas (LINARDI, 2004; BLAGBURN; DRYDEN 2009).

A longevidade das pulgas é variável de acordo com as condições climáticas, espécie e com a condição alimentar, sendo assim, a *C. felis felis* pode ter uma sobrevivência de 30 dias alimentando-se e de 19 dias em jejum (DRYDEN, 1993; LINARDI, 2004).

No ambiente, encontram-se 95% dos indivíduos da população de pulgas, enquanto apenas 5% estão sobre o hospedeiro (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Este fato proporciona uma constante população, servindo como fonte de reinfestação para os hospedeiros garantindo a continuidade do ciclo (SANTOS, 2008).

A pulga *C. felis felis* é de grande importância pois causa incômodo para os animais e atua como vetor de doenças (RUST; DRYDEN, 1997). Pode provocar reações alérgicas de intensidade variada, pelo efeito da picada e inoculação de saliva, e em grandes infestações pode causar anemia por deficiência de ferro em animais jovens ou de pequeno porte (LINARDI; SANTOS, 2012). Cães e gatos que não são alérgicos podem ser portadores assintomáticos, mas naqueles alérgicos as lesões incluem pápulas, crostas, eritema, alopecia, entre outros (MEDLEAU; HNILICA, 2003). Animais parasitados na tentativa de se livrarem das pulgas podem morder e arranhar a pele, arrancando pelos e escarificando os tecidos cutâneos (LINARDI, 2004).

Atua como hospedeiro intermediário do cestóide *Dipylidium caninum* comumente encontrado no intestino delgado dos cães e gatos e, acidentalmente, no homem, e do filarídeo *Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum* parasita de cães (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Além disso, são consideradas vetores biológicos de agentes patogênicos que representam risco potencial para a saúde humana, como *Rickettsia typhi* (NODEN et al., 1998), *R. felis*, *Bartonella henselae* (KAMRANI et al., 2008; BREITSCHWERDT, 2008) e *Yersinia pestis* (EISEN et al., 2008).

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem também permitido reconhecer DNA de *Leishmania chagasi* em *Ctenocephalides felis felis* coletadas de cães naturalmente infectados, permitindo assim novas perspectivas para a transmissão mecânica da leishmaniose visceral canina (COUTINHO, 2003; COUTINHO; LINARDI, 2007; FERREIRA, 2009; COLOMBO, 2012).

2.3 Controle de *Ctenocephalides felis felis*

As infestações por pulgas nos animais de companhia e no ambiente são comuns e a eliminação pode ser problemática, dispendiosa e demorada. Os gastos anuais com produtos para controle de pulgas em animais de estimação nos EUA excedem US\$ 1 bilhão (DRYDEN et al., 1989; CONNIFF, 1995).

Mesmo os cães que permanecem a maior parte do tempo no interior das residências podem apresentar esses parasitas, pois eventualmente caçam ou têm acesso a locais de repouso de mamíferos silvestres. Por vezes transportam carcaças de roedores infestados e dessa forma carregam os parasitas, causando infestação no interior das residências (VIEGAS, 1996).

Com a evolução dos conceitos sobre a biologia das pulgas e sua interação com o ambiente estabeleceu-se que para o sucesso no controle de infestações por esses ectoparasitas tornava-se necessária uma combinação de estratégias, incluindo o uso de inseticidas hospedeiro/alvo e de ação ambiental, além de meios mecânicos de eliminar ou reduzir as fases imaturas do ambiente (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

As medidas de controle são extremamente necessárias para fins de tratamento ou prevenção das infestações por tais ectoparasitos e das doenças por eles veiculadas (DRYDEN et al., 1989) e devem ser colocadas em prática utilizando abordagens que representem menores riscos ambientais, à saúde animal e humana.

O controle de pulgas pode ser feito através de métodos mecânicos, químicos, biológicos e/ou através do uso de inseticidas botânicos, levando-se em consideração as características próprias de cada sistema de criação em que se integram o hospedeiro, o parasita e o ambiente comum a ambos (DRYDEN et al., 1989; BUSS; PARK-BROWN, 2002).

2.4 Controle Mecânico

O controle mecânico de pulgas consiste em um conjunto de ações que visa principalmente remover as condições que propiciam o desenvolvimento das populações de pulgas no ambiente (PEREIRA; SANTOS, 1998).

Segundo Linardi e Guimarães (2000) a primeira etapa para o controle mecânico de pulgas, nos animais domésticos, como cães e gatos de pelo curto, é a higiene aliada à catação manual das pulgas frequentemente.

Em ambientes internos o principal item é a limpeza, com remoção de matéria orgânica que fica retida entre os tacos, tábuas corridas, debaixo dos feltros, tapetes e móveis (SCOTT, 2002). Pode-se fazer uma varrição cuidadosa e lavar o piso e a cama do animal, bem como cobertas, mantas, tapete e panos utilizados pelo mesmo (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

O uso de aspirador em tapetes, almofadas e móveis remove muitos ovos, larvas, pupas da pulga e outros substratos. A própria vibração do aparelho estimula a emergência de pulgas adultas de seus casulos, para que possam ser coletadas pelo aspirador. No entanto, deve ser assegurado que os sacos de vácuo sejam eliminados de forma adequada, para impedir a recolonização da casa com as fases da pulga previamente removidas por aspiração (WARREN, 1986).

Outras áreas que devem ser higienizadas são as garagens, porões, caixas de transporte de animais e automóveis. Muitas vezes esses locais são esquecidos e tornam-se fontes de reinfestação (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Em qualquer programa de controle é de suma importância que o proprietário seja orientado sobre a biologia e habitat das pulgas. Ele deve estar ciente de que em qualquer lugar que o animal infestado tenha acesso, ovos de pulgas estarão sendo depositados e que existe a possibilidade de desenvolvimento dos insetos. Portanto, lugares onde o animal passa a maior

parte do tempo terão o maior número de ovos depositados e conseqüentemente maior infestação. Este é o lugar onde as medidas de controle devem ser concentradas (DRYDEN et al., 1989).

No ambiente externo deve-se varrer o canil, manejar a vegetação, manejar o solo e evitar o contato do animal com animais externos ao domicílio (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Locais que não recebam luz solar direta e que apresentem acúmulo de folhagem e matéria orgânica podem se transformar em focos de criação de formas imaturas de *C. felis felis*, principalmente se as condições de temperatura e de umidade relativa forem favoráveis (DRYDEN, 1995).

O controle mecânico completo deve preceder o uso de inseticidas (BLAGBURN; DRYDEN, 1989).

2.5 Controle Químico

A estratégia mais utilizada para o controle de populações de insetos é baseada no uso de inseticidas, substâncias de origem natural ou sintética utilizadas para eliminar insetos em diferentes fases do seu ciclo de vida (RITTER, 1997; RUST, 2005; CORREIA et al., 2010).

Como exemplos de inseticidas de origem natural pode-se citar as piretrinas (grupo mais importante de inseticidas naturais), a nicotina e a rotenona. Enquanto os inseticidas de origem sintética conhecidos pertencem ao grupo dos clorados, fosforados, carbamatos, piretroides análogos sintéticos das piretrinas (GALLO et al., 1978; ELLIOTT et al., 1978), entre outros que surgiram nos últimos anos.

Tradicionalmente, o controle de pulgas é realizado com o uso de inseticidas, também denominados pulcidas ou pulguicidas (OPAS/OMS, 1996; TANCREDI et al., 2009), mas no manejo desses ectoparasitas é importante se conhecer a biologia e o habitat de suas diferentes fases de vida (DRYDEN et al., 2000).

Devido ao desconforto causado aos animais, principalmente aos alérgicos, e pelo fato de pulgas adultas passarem o tempo todo sobre o animal, a aplicação das medidas de controle geralmente se direcionam ao animal ao invés do ambiente. Por conta disso, consegue-se uma redução efetiva das pulgas num primeiro momento, fazendo com que o problema seja a reinfestação (VIEGAS, 1996).

Existem variadas classes químicas disponíveis para o controle de pulgas, por exemplo: piretroides, organofosforados, carbamatos, fenilpirazoles, nitroguanidinas e lactonas macrocíclicas que exercem efeito sobre o sistema nervoso dos insetos, além das substâncias reguladoras de crescimento dos insetos (RCI ou IGR - “insect growth regulator”), atualmente conhecidos como Reguladores de Crescimento de Artrópodes (RCA ou AGR - “arthropod growth regulator”) que possuem como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e, devido a sua atuação em sistemas específicos dos artrópodes, são caracterizados como produtos seletivos (SCOTT et al., 2002; OTRANTO; WALL, 2008).

Os ectoparasiticidas podem agir tanto sistemicamente, baseando-se na captação do composto pelos tecidos dos hospedeiros, quanto por contato direto com o parasita-alvo após a aplicação externa (TAYLOR, 2001), podendo a eficácia e duração residual serem influenciadas por condições ambientais como temperatura e umidade, superfície de tratamento, bem como pela forma de aplicação, formulação, cepa da pulga, desenvolvimento de resistência, entre outros (DRYDEN et al., 1989).

2.5.1 Controle químico com inseticidas de origem sintética

2.5.1.1 Diclorodifeniltricloroetano (DDT)

Historicamente, o uso de produtos sintéticos com ação inseticida teve início durante a Segunda Guerra Mundial (VIEGAS-JUNIOR, 2003), com a utilização de um organoclorado diclorodifeniltricloroetano (DDT), para prevenção de tifo transmitido por piolho e malária (D'AMATO et al., 2002; BEARD, 2006).

Esse produto sintetizado em 1874 e utilizado durante a guerra, quando aplicado em paredes e tetos de casas, permanecia ativo contra os insetos por vários meses, o que foi considerado um dos mais importantes avanços no controle de insetos acontecidos no século XX (BRAGA et al., 2007).

A disponibilidade de um inseticida tão eficaz e barato anunciou uma revolução agrícola (BEARD, 2006). A sua pronunciada propriedade inseticida, aliada à baixa solubilidade em água, alta persistência e sua forma de ação, desconhecida até aquele momento, propiciou resultados verdadeiramente notáveis e seu uso rapidamente se expandiu (FLORES et al., 2004).

As pesquisas sobre este grupo químico foram intensificadas por conta dos interesses da segunda guerra mundial, o que propiciou a descoberta de outros compostos dentro deste grupo (KASHIWAKI; GUERREIRO, 2015).

O DDT passou a ser muito utilizado na agricultura como pesticida, principalmente em colheitas com alto rendimento econômico, e em programas de controle de doenças tropicais, inclusive no Brasil, como a malária (TAUIL et al., 1985; FLORES et al., 2004). No entanto, já em 1962, evidências de que o uso indiscriminado de DDT estaria causando desequilíbrio ecológico, começaram a ser demonstradas.

Com o passar do tempo foi evidenciado que embora se tratasse de um inseticida altamente eficiente em curto prazo, a longo prazo provocava efeitos prejudiciais à saúde humana, atuando sobre o sistema nervoso central causando diversos distúrbios podendo inclusive causar a morte. Além disso, por sua alta persistência era capaz de atingir além dos vetores, a fauna e a flora da área, contaminam as áreas mais remotas da Terra, sendo carregados por animais migrantes, por corrente de ar e oceânica (D'AMATO et al., 2002, GARCEZ et al., 2013).

Sendo assim, em 1995, a Organização Mundial da Saúde publicou um informe declarando que o DDT poderia continuar sendo utilizado no controle de mosquitos vetores de malária e outras doenças transmitidas por artrópodes, apenas em situações onde o emprego de outro produto não pudesse ser realizado. O DDT então passou a ser substituído por outros produtos (D'AMATO et al., 2002).

Os inseticidas do grupo do DDT agem nos canais de sódio dos insetos, mantendo-os abertos por um período mais longo. Com isso, ações repetitivas são desencadeadas e os insetos morrem devido a hiperexcitação (FLORES et al., 2004).

Os produtos organoclorados estão classificados no grupo das Substâncias Tóxicas Persistentes (STP) pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Trata-se de um grupo de substâncias, composto por substâncias que são consideradas de alta toxicidade, persistência ambiental, e outras características como alta hidrofobicidade e bioconcentração nos tecidos dos seres vivos (ALMEIDA et al., 2007).

O uso frequente e indiscriminado de produtos químicos, muitas vezes leva ao desequilíbrio biológico, contaminações ambientais, intoxicações de seres humanos e animais, ressurgência de pragas, surtos de pragas secundárias e linhagens de parasitos resistentes (DEQUECH et al., 2008). Além disso, devido a importância da conservação do meio ambiente,

a biodegradabilidade dos produtos torna-se um requisito fundamental nas avaliações e planejamento de agentes inseticidas (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

2.5.1.2 Carbamatos e organofosforados

Os compostos pertencentes à categoria dos organofosforados e carbamatos apresentam mecanismo de ação baseado na inibição da acetilcolinesterase (AChE), enzima que catalisa a hidrólise da acetilcolina, um importante neurotransmissor (OPAS/OMS, 1996; SILVA et al., 2001). Assim, na ausência da acetilcolinesterase, a acetilcolina liberada acumula-se, provocando um colapso no sistema nervoso central e paralisia neuro-muscular (TAYLOR, 2001). Estes inseticidas são responsáveis pela maioria das mortes por intoxicação no Brasil (OPAS/OMS, 1996).

Organofosforados se ligam ao centro esterásico de AChE inibindo a ação da acetilcolinesterase de forma irreversível. Já os carbamatos inativam a acetilcolinesterase temporariamente, sendo considerados menos perigosos com relação à exposição do que os organofosforados (CAVALIERE et al., 1996).

Os organofosforados são amplamente utilizados na agropecuária e têm causado intoxicações acidentais em animais e em humanos (CAVALIERE et al., 1996). São extremamente tóxicos para os gatos e devem ser usados com precaução para tratamento de ambientes onde o gato possa ter contato. Muitos dos organofosforados são usados para tratamento ambiental contra larvas de moscas e estágios imaturos da pulga (TAYLOR, 2001), poucos continuam sendo usados para tratamento animal (MACDONALD, 1995).

Os dois principais compostos carbamatos de uso em medicina veterinária, carbaril e propoxur, apresentam baixa toxicidade para mamíferos. Outro carbamato utilizado é o fenoxycarb, um carbamato não neurotóxico que atua como um regulador do crescimento de insetos e previne o desenvolvimento embrionário no ovo da pulga, desenvolvimento larval e emergência de adulto (GRENIER; GRENIER, 1993; TAYLOR, 2001).

2.5.1.3 Fenilpirazóis

O principal ingrediente ativo do grupo dos fenilpirazóis é o inseticida fipronil, que possui alta persistência no ambiente (ZALUSKI, 2014).

Seu mecanismo de ação, assim como os demais pirazóis, está envolvido com o bloqueio dos canais de cloro regulados pelo ácido gama-amino butírico (GABA), um neurotransmissor inibitório do SNC, presente no inseto (BLACKBURN; LINDSAY, 2003), levando-o à morte por hiperexcitação do sistema nervoso do inseto (Postal et al. 1995). Demonstra excelente efeito residual em decorrência de sua lipofiliabilidade, acumulando-se nas glândulas sebáceas, sendo lentamente eliminado juntamente com o sebo, recobrando completamente pele e pelos (BRANDÃO, 2004).

Fipronil é utilizado mundialmente para o tratamento e controle de pulgas em cães e gatos e por apresentar efeito tópico, não exige que as pulgas piquem os animais para que entrem em contato com o produto, o que é desejado para animais com dermatite alérgica (TAYLOR, 2001; BRANDÃO, 2004). É também utilizado em pecuária (TINGLE et al., 2003) e para o controle de pragas em diversas culturas agrícolas (ANVISA, 2014), pois seu amplo espectro de ação permite que doses relativamente menores sejam empregadas (ÁVILA; GOMEZ, 2003).

Com relação à toxicidade, alguns estudos apontam que fipronil é pouco tóxico para organismos não alvos, outros descrevem que este inseticida apresenta alta toxicidade para parasitoides úteis em agroecossistemas e invertebrados aquáticos. No entanto, a maioria das ações tóxicas sobre os animais foi, até agora, pouco investigada (OLIVEIRA, 2010).

Lyons (2000) em seu trabalho evidencia um potencial carcinogênico de fipronil. O autor esclarece que a exposição por um pequeno intervalo de tempo pode causar sérios efeitos sobre o desenvolvimento de fetos e, após o nascimento, sequelas como dificuldade de aprender, diminuição dos reflexos, esterilidade, além do aumento da suscetibilidade à outras doenças

2.5.1.4 Reguladores de Crescimento de Artrópodes (RCA)

Os RCA's eram denominados de reguladores de crescimento de insetos (RCI's) mas ao ser comprovada sua atividade acaricida passou a ser classificado como reguladores de crescimento de artrópodes (VIEIRA, 2012).

O primeiro relato sobre o uso potencial do RCA no controle de insetos foi em 1956, quando verificou-se que aplicando topicamente o hormônio juvenil obtido do abdômen da borboleta *Hyalophora cecropia* (L.), o inseto não realizava metamorfose.

Um RCA é uma substância que atua no interior de um inseto para acelerar ou inibir um processo de regulação fisiológica essencial para seu desenvolvimento normal ou de seus descendentes (SIDDALL, 1976). Possuem como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e atuando de forma lenta e gradual interferindo no crescimento e desenvolvimento do inseto (GRAF et al., 2004).

Inseticidas reguladores de crescimento apresentam algumas vantagens como: maior seletividade a inimigos naturais, com espectro de ação mais restrito; menor toxicidade a mamíferos e vertebrados; rápida fotodegradação e dissipação; e não persistência de resíduos em sedimentos (MARTINS et al., 2008).

Com base em seu modo de ação podem ser divididos em inibidores da síntese de quitina (benzoilfeniluréias), inibidores da deposição de quitina (triazina/derivados de pirimidina) e análogos do hormônio juvenil (RUST; DRYDEN, 1997; GRAF, 1993). As drogas provenientes deste grupo são muito seguras para os mamíferos, pois os mesmos não apresentam hormônios juvenis e estruturas quitinosas ou ainda, receptores para estas moléculas (BOWMAN, 2003).

Um exemplo de RCA bastante utilizado é o piriproxifen, que se enquadra nos RCA's análogos do hormônio juvenil, ou seja, no momento em que fisiologicamente sua produção diminui no inseto para que ocorra a muda, esse fármaco mimetiza o hormônio juvenil e o inseto não consegue realizar a metamorfose. Esse fármaco apresenta comprovada eficácia na interrupção do desenvolvimento da pulga *C. felis felis*, quando empregado no cão, no gato e no ambiente (RUST, 2005). A presença do piriproxifen durante a metamorfose dos insetos evita seu desenvolvimento, ou seja, evita que as larvas eclodam dos ovos, que as larvas venham a se tornar pupa, adultos venham emergir do pupário ou que adultos venham a reproduzir (MEOLA et al., 1993).

2.5.2 Controle químico com inseticidas de origem sintética

2.5.2.1 Piretroides

Os piretroides são análogos sintéticos das piretrinas, grupo mais importante de inseticidas naturais, representado por seis ésteres com estruturas químicas semelhantes que são extraídos das flores de crisântemo ou piretro, *Chrysanthemum cinerariaefolium*. São amplamente utilizados na prática agrícola e na medicina veterinária devido a sua maior estabilidade à luz, quando comparada às piretrinas (ELLIOTT et al., 1978).

O piretro era utilizado desde o século XVIII, na Pérsia e Iugoslávia, e a partir de 1828 passou a ser processado comercialmente para controle de insetos. Seu uso declinou na década

de 1950 devido à síntese de análogos sintéticos com maior estabilidade e efetividade (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

São classificados em tipo I e II de acordo com a ausência (tipo I) ou presença (tipo II) de um grupo ciano (CN) na porção fenoxibenzil (SANTOS et al., 2007) e considerados venenos axônicos, atuando principalmente nos canais de sódio das células nervosas do sistema nervoso central e periférico dos insetos (BLOOMQUIST, 2009). O mecanismo de ação envolve o fechamento lento dos canais de sódio da membrana neuronal e inibição do fluxo de íon cloro dependente do receptor do GABA (DROBATZ, 1994).

Os piretroides possuem propriedades lipofílicas que facilitam a penetração nos artrópodes através da cutícula rica em lipídeos (ANDRADE, 2002), causando hiperexcitação do sistema nervoso, levando a convulsões e posterior morte do inseto (CORBETT 1984; WARE; WHITACRE, 2009).

Embora apresentem baixa toxicidade em mamíferos, sua utilização deve ser cautelosa porque podem exercer efeitos neuro e cardiotoxicos nos vertebrados (SANTOS et al., 2007).

Alguns dos piretroides mais comumente utilizados em medicina veterinária incluem bioaletrina, cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, flumetrina, lambda-cialotrina, permetrina e fenotrina, disponíveis em diferentes formulações com atividade sobre uma ampla gama de ectoparasitas em animais de grande e pequeno porte (moscas, piolhos, carrapatos e ácaros causadores de sarnas). Em animais de companhia, são usados principalmente para controle de pulgas (TAYLOR, 2001, ANADÓN et al., 2008).

2.5.2.2 Neonicotinoides

Neonicotinoides, também denominados nitroguanidinas, constituem um grupo de inseticidas descobertos a partir da molécula de nicotina. A descoberta dos inseticidas do grupo dos neonicotinoides, revelou-se um marco no controle químico de insetos sendo o grupo que mais cresceu no mercado, desde a comercialização dos piretroides (NAUEN; BRETSCHEIDER, 2002)

Esses inseticidas exercem ação agonista ligando-se aos receptores nicotínicos pós-sinápticos da acetilcolina, mas diferente da acetilcolina, que é hidrolisada pela acetilcolinesterase, os neonicotinoides não são degradados imediatamente. Portanto, os impulsos nervosos são transmitidos continuamente, levando à hiperexcitação do sistema nervoso (SCARPELLINI; ANDRADE, 2010).

Oferecem elevada capacidade inseticida, baixa toxicidade a mamíferos e são registrados para o controle de uma grande variedade de insetos-praga em diversos agroecossistemas como hemípteros, moscas, coleópteros e lepidópteros (NAUEN et al., 2003; MOURA et al., 2005). A toxicidade seletiva favorável parece ser devido ao fato desses fármacos só se ligarem aos receptores de acetilcolina dos insetos, não tendo nenhum efeito sobre esses receptores em mamíferos (TAYLOR, 2001).

Imidacloprid e nitempiram são fármacos neonicotinoides disponíveis comercialmente que possuem atividade sobre pulgas. Imidacloprid, primeiro fármaco neonicotinoide a entrar no mercado veterinário destinado ao controle de pulgas em cães e gatos, demonstrou altos níveis de eficácia em diversos estudos realizados para o controle de *C. felis felis* (CORREIA et al., 2007). Enquanto o nitempiram por via oral, segundo Brandão (2004), atingiu concentração circulatória capaz de eliminar cerca de 95% das pulgas dentro de quatro a seis horas após o tratamento.

Outro neonicotinoide disponível comercialmente é o dinotefuran, produto utilizado em uma ampla variedade de pragas em diversos tipos de culturas (WAKITA et al., 2005), com atividade inseticida sobre *C. felis felis* relatada (CORREIA et al., 2007).

2.5.2.3 Lactonas macrocíclicas

Os derivados macrocíclicos da lactona, as avermectinas (ivermectina, abamectina, doramectina, eprinomectina e selamectina) e milbemicinas (milbemicina e moxidectina), têm uma estrutura química bastante semelhante, diferindo apenas em alguns radicais (SHOOP et al., 1995). Apresentam uma estrutura cíclica principal composta por 16 elementos, sendo que as avermectinas apresentam um dissacarídeo (Bis-oleandrose) que as diferenciam das milbemicinas. Começaram a ser utilizadas como anti-helmínticos a partir da década de 1980 e são produtos obtidos da fermentação de fungos do gênero *Streptomyces* (ALMEIDA; AYRES, 2006).

As lactonas macrocíclicas são agonistas do GABA causando hiperpolarização do neurônio e inibição da passagem do estímulo nervoso. Em artrópodes e nematóides, a ativação do GABA promove hiperpolarização com desenvolvimento de paralisia flácida e morte do parasito. Além desse mecanismo de ação, atuam também sobre os canais de cloro controlados pelo glutamato (SPINOSA et al., 2008).

Embora os mamíferos utilizem o GABA como neurotransmissor, geralmente não sofrem efeitos tóxicos causados por avermectinas e as milbemicinas, pois, essas moléculas apresentam alto peso molecular e não atravessam a barreira hematoencefálica (BHE). No entanto, intoxicações por lactonas macrocíclicas estão entre as intoxicações, não intencionais, mais comuns em cães e gatos, devido a facilidade de obtenção, custo acessível dos fármacos e porque muitos produtos formulados para uso em grandes animais são administrados fora da dose terapêutica em cães e gatos (MORADOR, 2011). Quando administrados em dose adequada, o que geralmente determina a toxicidade dos macrolídeos é uma falha na BHE (MEALEY, 2006).

Algumas raças como Collie, Old English Sheepdog, Pastor de Shetland e Pastor Australiano, quando submetidos à terapia com ivermectina e milbemicina, podem manifestar sinais de intoxicação, como convulsão, depressão, tremores, ataxia, letargia, emese, sialorréia e midríase, ou mesmo evoluir para morte (AYRES; ALMEIDA, 1999).

As lactonas macrocíclicas têm sido empregadas em pequenos animais como acaricidas contra ácaros causadores de sarnas e no controle de carrapatos. Também apresentam atividade anti-helmíntica e na prevenção da dirofilariose canina (DELAYTE et al., 2006).

Com relação ao controle de pulgas, Zakson-Aiken et al. (2000) afirmam, após experimento realizado, que a ivermectina apresenta baixos níveis de eficácia no controle desses insetos. No entanto, uma associação de moxidectina e imidacloprid bem como a selamectina têm sido utilizadas para o controle de pulgas, selamectina possui ainda a recomendação em bula de que possui atividade contra ovos (BRANDÃO, 2004).

2.6 Controle Biológico

O controle biológico trata-se de um controle realizado para controlar e/ou combater as chamadas pragas parasitárias, utilizando-se organismos como fungos, protozoários, bactérias, entre outros. Baseia-se em um dos fundamentos básicos das relações ecológicas entre os seres vivos de que cada espécie, seja animal, vegetal ou microbiana, possui inimigos naturais (MELO; AZEVEDO, 1998).

Esse tipo de controle não gera efeitos negativos sobre o ambiente, uma vantagem sobre o controle químico convencional (GRONVOLD et al., 1996). Dessa forma, os agentes de controle biológico são uma alternativa econômica e ecologicamente viável (PRAÇA et al., 2004).

O primeiro registro de sucesso de controle biológico clássico ocorreu na Califórnia. A joaninha *Rodolia cardinalis*, trazida da Austrália em 1888, foi introduzida para o controle do

pulgão-branco dos citrus, *Icerya purchasi* Maskell. Em dois anos a praga estava controlada biologicamente (CARVALHO, 2006).

Comparado ao controle químico, o controle biológico apresenta inúmeras vantagens, especialmente quanto ao impacto ambiental, custo, manuseio, especificidade e desenvolvimento de resistência. Entretanto, os bioinseticidas, de maneira geral, apresentam um efeito mais lento do que o químico, sendo necessárias, portanto, mudanças no manejo de insetos praga (SILVA, 2009).

Dentre as bactérias utilizadas no controle biológico, *Bacillus thuringiensis* é responsável por 90%–95% do mercado de bioinseticidas (VALADARES-INGLIS et al., 1998) com atividade sobre os insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (PRAÇA et al., 2004). No entanto, os fungos apresentam vantagens, pois a maioria é altamente especializada na penetração via tegumento do inseto ao mesmo tempo que podem infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros, como ovos, larvas, pupas e adultos (MELO et al., 2007).

Dentre os micoinseticidas existentes, os que apresentam esporos do fungo *Beauveria bassiana* como ingrediente ativo são muito utilizados e eficientes para o combate de diversas pragas (UHRY, 2007). Estudos experimentais demonstraram que os fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* completaram seu ciclo sobre a cutícula da pulga *C. f. felis*, potencial no que se refere ao controle biológico deste inseto (MELO et al., 2007)

2.7 Controle A Partir de Inseticidas Botânicos

Os organismos vivos possuem rotas metabólicas designadas como metabolismo primário, onde são produzidas as macromoléculas essenciais à vida e comuns aos seres vivos, como carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007). Entretanto, muitas organelas sintetizam compostos orgânicos, por metabolismo secundário, que participam do processo de sobrevivência sem estarem diretamente ligados ao crescimento ou desenvolvimento. Esses compostos são denominados metabólitos secundários e são considerados extremamente úteis para defesa e proteção, principalmente de plantas, onde são capazes de protegê-las contra herbívoros, insetos e raios ultravioleta, por exemplo (EISLER, 1992 apud GARCEZ et al., 2013).

O uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas “inseticidas” é mais uma alternativa no manejo integrado de pragas (VASCONCELOS et al., 2006).

Algumas plantas, ao longo de sua evolução, desenvolveram sua própria defesa química contra os insetos herbívoros, sintetizando metabólitos secundários com propriedades inseticidas, isto é, com ação tóxica contra os insetos ou que causam sua morte por outros modos de ação, ou mesmo sua repelência (MACHADO et al., 2007).

O uso de plantas com propriedades inseticidas é uma prática muito antiga (ROEL et al., 2000). Registros bem documentados mostram que, antes de 1850, foram utilizadas 20 espécies de plantas pertencentes a 16 famílias diferentes para o controle de pragas agrícolas e hortícolas na Europa Ocidental e China (IBRAHIM et al., 2001). No entanto, variações na eficiência do controle e os baixos efeitos residuais fizeram com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (MACHADO et al., 2007).

Com o passar dos anos surgiram cobranças, por parte da sociedade, por alternativas de controle de pragas que não provocassem impactos negativos sobre a saúde humana, ambiente e recursos naturais (GUIMARÃES et al., 2014), pois embora eficientes, os inseticidas sintéticos apresentam uma série de problemas, como contaminação ambiental, presença de altos níveis de resíduos nos alimentos, desequilíbrio biológico devido à eliminação de inimigos naturais, surgimento de populações de insetos resistentes (HERNÁNDEZ; VENDRAMIM, 1996).

Os inseticidas botânicos são produtos derivados de plantas ou partes das mesmas, podendo ser o próprio material vegetal, normalmente moído até ser reduzido a pó, ou seus produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos, tais como álcool, éter, acetona, clorofórmio etc. ou por destilação (MACHADO et al., 2007). Esses inseticidas têm sido apontados como potenciais alternativas ao uso de inseticidas sintéticos convencionais, presumivelmente, porque extratos e óleos essenciais teriam menores impactos sobre a saúde humana e ambiente (ISMAN et al., 2011).

A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis (conhecidos também como óleos essenciais, óleos etéreos ou essências) como sendo os produtos obtidos de partes de plantas por meio da destilação por arraste de vapor d'água, bem como os produtos obtidos por prensagem dos pericarpos de frutos cítricos (BASER, 2015).

De forma geral, os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. A designação de “óleo” é devida a algumas características físico-químicas como, por exemplo, a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente. Sua principal característica, contudo, consiste na volatilidade que o difere assim, dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas obtidas normalmente de sementes (óleo de soja, de mamoma, de girassol, etc) (SIMÕES; SPITZER, 2003). A maioria possui baixa toxicidade para mamíferos, são biodegradáveis e não persistem no ambiente (ISMAN, 2000).

As principais técnicas de obtenção dos óleos essenciais são hidrodestilação e arraste a vapor (BUSATO et al., 2014).

Algumas substâncias presentes nos óleos essenciais possuem alto valor comercial. Inúmeras entidades internacionais comercializam óleos essenciais como matéria-prima para a produção de aromas e fragrâncias (BIZZO; REZENDE, 2009).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleo essencial, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais cítricos (BIZZO; REZENDE, 2009), que assim como os demais óleos essenciais, são matérias-primas de aplicação importante na cadeia produtiva das indústrias de perfumaria, cosmética, farmacêutica e alimentícia (SILVA-SANTOS et al., 2006).

Para identificação dos constituintes presentes no óleo essencial, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas constitui uma das técnicas mais utilizadas (MONTANARI, 2010). A identificação é feita por meio da comparação dos espectros de massas da amostra, com os existentes no banco de dados do aparelho e também pelos índices de retenção relativos (ADAMS, 1995). Em geral, apresentam atividade de acordo com suas principais substâncias.

Os principais constituintes dos óleos e mais abundantes são os terpenos (LOBO; LOURENÇO, 2007) estes são produzidos a partir do metabolismo primário e desempenham papel importante na relação planta x ambiente (PHILLIPS et al., 2008).

Na natureza os óleos essenciais desempenham papéis ecológicos importantes na proteção de plantas, atuando como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e contra herbívoros reduzindo a palatabilidade das plantas que os produzem. Devido à essas propriedades, estudos com óleos essenciais de várias plantas tem sido um alvo constante dos investigadores nas indústrias farmacêuticas, cosmética e alimentícia (MONTANARI, 2010), bem como na busca de novas formulações para uso veterinário e novas moléculas ativas que possam servir como constituintes ativos, ou mesmo de protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos, mais eficazes e seguras para utilização em medicina veterinária.

Embora a ação dos óleos essenciais seja geralmente atribuída à alguns compostos particulares, um fenômeno sinérgico entre estes metabólitos pode resultar em uma bioatividade maior quando comparada aos componentes isolados (HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001).

Liu et al. (2006) verificaram maior atividade repelente da mistura de óleos essenciais a partir de *Artemisia princeps* e *Cinnamomum camphora* contra adultos de insetos pragas de grãos armazenados, *Sitophilus oryzae* L. e *Bruchus rugimanus*, do que a induzida por óleos individuais. A maior atividade obtida pode ser resultado de um efeito sinérgico dos principais compostos presentes nos óleos (NERIO et al., 2010).

Uma planta pode conter centenas de metabólitos secundários, encontrados nas raízes, folhas e sementes, como por exemplo os rotenoides, piretroides, alcaloides, terpenoides, entre outros que podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis sobre os insetos (MEDEIROS, 1990).

Os rotenoides pertencem à classe dos isoflavonoides, sendo a rotenona o mais conhecido e estudado, em função de seus efeitos icctiotóxico e inseticida (GARCEZ et al., 2013). Os isoflavonoides possuem diversas funções como a pigmentação de flores, proteção contra patógenos, alelopatia, nutrição, entre outras (CORDEIRO, 2007). Insetos quando expostos à rotenona, em questão de horas ou alguns dias param de se alimentar e morrem (MELO, 2007). Trata-se de um inseticida de amplo espectro usado no controle de insetos como pulgões, besouros, lagartas, bem como pulgas e piolhos nos animais (BUSS; PARK-BROWN, 2002).

Os piretroides, como citado anteriormente, são análogos sintéticos das piretrinas, substâncias derivadas de extratos das flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, amplamente utilizados em medicina veterinária para fins agrícolas e domésticos (ELLIOTT et al., 1978). Podem ser utilizados contra diversas pragas, incluindo formigas, pulgões, baratas, pulgas, moscas e carrapatos (BUSS; PARK-BROWN, 2002).

Alcaloides são produtos naturais de baixo peso molecular, caracterizados pela presença de um átomo de nitrogênio em sua estrutura básica (PROBST, 2012). São particularmente tóxicos para insetos e, frequentemente, causam sua morte (MELLO; SILVA-FILHO, 2002). Um inseticida alcaloide bastante conhecido é a nicotina, extraída das folhas de *Nicotiana* spp. (MACHADO et al., 2007).

Os terpenoides abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal e sua importância ecológica como defensivos de plantas está bem estabelecida. Os terpenos podem ser divididos em monoterpenos (2 unidades de isopreno), sesquiterpenos (3 unidades de isopreno), diterpenos (4 unidades de isopreno) e triterpenos (6 unidades de isopreno) (DEWICK, 2002). Podem apresentar estruturas cíclicas, bem como a adição de átomos de oxigênio formando álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas (MONTANARI, 2010; GENOVESE et al., 2012). Monoterpenos e com um menor grau os sesquiterpenos, compreendem os componentes principais de óleos essenciais de plantas (IBRAHIM et al., 2001).

Monoterpenos são voláteis e responsáveis pelos odores característicos de muitas plantas, representando um dos maiores e mais diversas famílias de compostos naturais (IBRAHIM et al., 2001). O limoneno é um monoterpeno encontrado em frutas cítricas (MENEZES, 2005), o qual apresenta atividade inseticida relatada sobre todas as fases do ciclo biológico de *C. felis* e sobre outros insetos como cupins, besouros, larvas de mosquitos e pragas de culturas (HINK; FEE, 1986).

A maioria dos trabalhos que se referem aos terpenoides superiores, fazem referência às observações de que esses metabólitos podem causar inibição de desenvolvimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressão de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

Existem substâncias presentes nos extratos e óleos essenciais bastante especializadas na sua ação, afetando o balanço hormonal do inseto. Outras são altamente tóxicas, como os alcaloides e cianógenos. Outras, ainda, reduzem a palatabilidade, como as cucurbitacinas, ou a qualidade nutricional da planta, como os taninos (HARBORNE, 1982). Os efeitos dessas

substâncias sobre insetos podem ocorrer por contato, fumigação ou ingestão (ISMAN et al., 2011).

Do ponto de vista de controle de insetos, são normalmente classificadas como: análogos hormonais de insetos, repelentes e atraentes, toxinas e substâncias deterrentes (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Os análogos hormonais ocasionam malformação, esterilidade e morte. Já as substâncias repelentes ou atraentes das plantas, podem repelir insetos indesejáveis ou atrair os desejáveis para que ocorra sua polinização. Algumas plantas são capazes de produzir toxinas capazes de matar o inseto, enquanto outras possuem atividade deterrente, inibindo a alimentação dos mesmos (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Essas substâncias podem representar uma alternativa quando associadas a outros métodos de controle, mantendo o equilíbrio ambiental e reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada de produtos sintéticos (MACHADO et al., 2007).

É importante salientar a importância de testes toxicológicos, pois apesar de apresentarem fácil decomposição, tratam-se de substâncias químicas com atividade biológica, e, o uso de doses inadequadas ou a forma de aplicação podem causar problemas (SAITO, 2004; SAITO; LUCCHINI, 1998).

Segundo a toxicologia, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, dependendo das condições de exposição. A toxicidade de uma substância a um organismo vivo pode ser considerada como a capacidade de lhe causar dano grave ou morte (OGA, 2003). Um parâmetro importante a ser utilizado nos estudos de toxicidade é a dose letal 50, que além de ser um parâmetro estatístico, representa a quantidade necessária do fármaco para provocar a morte de 50% de um lote de indivíduos normais submetidos à experiência (LARINI, 1997).

Com a crescente disponibilidade de produtos “naturais” para animais de companhia, os proprietários precisam estar cientes do potencial para efeitos adversos de muitos ingredientes de origem vegetal, da falta de comprovação de sua eficácia clínica e da ausência de controle regulamentar para estes produtos. Nesse sentido, pesquisas sobre eficácia e segurança destes produtos em relação a outros produtos regulamentados tornam-se essenciais (GENOVESE et al., 2012).

2.7.1 Principais plantas com atividade inseticida

Extratos de plantas vêm sendo utilizados pelo homem desde a Idade Antiga, numa prática que persiste até os dias atuais, com mais de 2000 espécies de plantas conhecidas por suas propriedades inseticidas (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

Nos últimos anos, tem havido um aumento gradual do uso de medicina alternativa em animais, incluindo o uso de plantas ou produtos à base de plantas (GENOVESE et al., 2012).

Segundo Jacobson (1989) as espécies botânicas mais promissoras, como fontes de substâncias inseticidas, pertencem às famílias Anacardiaceae, Anonaceae, Asteraceae, Cannellaceae, Lamiaceae, Leguminosae, Meliaceae, Mirtaceae e Ruraceae. No entanto, as principais plantas das quais foram obtidas substâncias com atividade inseticida pertencem aos gêneros *Nicotiana* (família Solanaceae), *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (família Fabaceae), *Chrysanthemum* (família Asteraceae) e *Azadirachta* da família Meliaceae (DEQUECH et al., 2008).

Economicamente, a espécie mais importante é *C. cinerariaefolium*, pois nessa planta estão presentes as piretrinas que deram origem aos piretroides sintéticos atuais (VALENTINE, 1990), usados para controle de insetos como pulgas, percevejos, moscas, mosquitos, coleópteros e lagartas (SAITO; LUCCHINI, 1998; VIEGAS-JUNIOR, 2003).

O gênero *Nicotiana* foi durante muito tempo de grande importância devido à extração de nicotina utilizada como inseticida. A nicotina foi isolada de várias espécies de *Nicotiana*, sendo *N. tabacum* e *N. rustica* as espécies mais utilizadas para sua extração. A nicotina começou a ser utilizada no século XVII para controlar insetos em jardins e foi o alcaloide mais importante com atividade inseticida que chegou a ser utilizado extensivamente para o combate de pragas na agricultura, até o século XX (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Chamadas popularmente de “timbó”, *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Fabaceae) são plantas ictiotóxicas produtoras de rotenoides, substâncias muito utilizadas em jardins e casas no combate a insetos e a ectoparasitas em animais na década de 70 nos Estados Unidos (VIEGAS-JUNIOR, 2003)

A espécie *Azadirachta indica* é uma das mais estudadas devido a suas propriedades químicas. Conhecida como “nim”, é rica em azadiractina, um constituinte ativo com diversos mecanismos de ação dentre eles: inibição da alimentação dos insetos e do desenvolvimento das larvas, redução da fecundidade e fertilidade dos adultos, alteração do comportamento, morte e repelência (FERNANDES, 2009).

Outras plantas têm sido estudadas e tem revelado resultados promissores. Um produto bastante conhecido oriundo de planta é o óleo da citronela, utilizado em repelentes pessoais aplicados sobre a pele para proteção de mosquitos e outros insetos picadores (ISMAN et al., 2011). As plantas mais ricas nessa substância são o “capim citronela” (*Cymbopogon nardus* e *C. winterianus*) e uma espécie de eucalipto, o *Eucalyptus citriodora*, mas pode ser encontrada em menor concentração, também em outras espécies, de outras famílias de plantas (SAITO, 2004).

O potencial para desenvolvimento sustentável e a diversidade estrutural de seus constituintes apontam as plantas como a principal fonte renovável para a descoberta e o desenvolvimento de novas drogas (MACIEL et al., 2002). Um estudo mostra que 68% dos produtos registrados na Agência de Proteção Ambiental (EPA), nos Estados Unidos da América, são de origem natural (CANTRELL, 2012).

A utilidade das plantas, para o controle de pragas, não se limita apenas na utilização das substâncias delas obtidas ou de seus extratos. Essas substâncias ativas podem quase sempre ser utilizadas como modelos para síntese de novos princípios ativos (SAITO, 2004).

Atualmente, alguns produtos à base de plantas estão disponíveis no mercado como Margosan-O®, que contém a azadiractina como componente principal exercendo atividade inseticida e acaricida (VIEGAS-JÚNIOR, 2003); o Vimang® que contém mangiferina, um constituinte que apresenta atividades imunoestimulante, anti-inflamatória, antioxidante, citotóxica e antineoplásica; e Himax®, Ectozee®, Pestoban® e Charmil® desenvolvidos a partir do óleo de *Cedrus deodara*, cujo principal ativo é o limoneno, demonstrando atividade inseticida e acaricida (FLAMINI, 2003).

Os óleos cítricos, cujo princípio ativo é o linalool, também são ingredientes ativos de diversos *sprays*, shampoos e loções para o controle de ácaros e pulgas. (BLAGBURN & LINDSAY, 2003).

Estudos realizados por Batista et al. (2013a) e Batista et al. (2013b) revelaram atividade pulicida *in vitro* de *Rosmarinus officinalis* e *Pilocarpus pennatifolius*, respectivamente. No entanto, estudos *in vivo* utilizando produtos naturais para o controle de *C. felis felis* não foram encontrados na literatura.

2.7.1.1 Família Anacardiaceae

Anacardiaceae é uma família de plantas de ampla distribuição geográfica, constituída por cerca de 70 gêneros e 600 espécies (CORREIA et al., 2006), presentes em ambientes secos

a úmidos, principalmente em terras baixas nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo, estendendo-se até regiões temperadas (LUZ, 2011).

Trata-se de um grupo composto por árvores ou arbustos, pequenos ou grandes, sempre com canais resiníferos nos ramos, cujas folhas são coriáceas, alternas, simples ou compostas e flores pequenas (FALCÃO, 1966). As partes jovens exalam aroma e sabor característicos, semelhantes ao do fruto verde da manga (*Mangifera indica* L.), uma das espécies mais notórias da família (LUZ, 2011). Essa família está entre as maiores no grupo das angiospermas (GONÇALVES, 2014).

Anacardiaceae tem se mostrado bastante promissora na busca de substâncias bioativas (SUZIMONE et al., 2006; CORREIA et al., 2006; SOUZA et al., 2008; FERNANDES; FAVERO, 2014). Os gêneros mais estudados nesta família são *Mangifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea*, sendo que *Mangifera*, *Rhus* e *Anacardium* destacam-se pelo número de investigações relativas à composição química de suas espécies e atividades biológicas de seus extratos e metabólitos, provavelmente devido à importância econômica e toxicidade demonstrada (CORREIA et al., 2006)

Muitas espécies de Anacardiaceae são conhecidas por fornecerem frutos de alto valor econômico tais como caju (*Anacardium occidentale* L.), manga (*Mangifera indica* L.), pistache (*Pistacia vera* L.), cajá (*Spondias mombim* L.), siriguela (*Spondias purpurea* L.) e umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) (BRITO, 2010). Outras produzem madeiras de boa qualidade como a muiiraquatiara (*Astronium fraxinifolium* Schott e *Astronium lecointein* Ducke), aroeira do sertão (*Astronium urundeuva* Engl.), e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) (MONTANARI, 2010).

Algumas espécies são utilizadas na ornamentação de ruas e praças como as aroeiras (*Schinus terebinthifolius* Raddi e *Schinus molle* L.), a árvore da cera (*Rhus succedanea* L.) e peito de pombo (*Tapirira guianensis* Aubl.). Esta última é a espécie nativa mais comum ocorrendo em quase todas as formações florestais brasileiras (SOUZA; LORENZI, 2005; MONTANARI, 2010).

Os frutos de muitas espécies da família são atrativos da fauna, principalmente da avifauna (GUIMARÃES, 2003), mostrando a importância da sua utilização em programas de recomposição de vegetação.

As substâncias de maior ocorrência na família são os triterpenos, biflavonoides e lipídios fenólicos e as atividades biológicas têm justificado o interesse no estudo desta família na busca de princípios bioativos (CORREIA et al., 2006).

Diferentes plantas da família Anacardiaceae apresentaram atividade sobre diferentes insetos, como *S. terebinthifolius* Raddi sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) (SANTOS et al., 2013) e sobre pragas de semente de leguminosas armazenadas (*Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman); e *Tapirira guianensis* Aubl. e *S. molle* sobre o gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* (SOUZA et al., 2008; FERNANDES; FAVERO, 2014).

Atividades imuno-estimulante, anti-inflamatória, antioxidante, citotóxica, antineoplásica, antibacteriana e antifúngica foram relatadas em outras plantas da família Anacardiaceae (OZÇELIK et al., 2005; MONTANARI, 2010).

O Brasil é o país com a maior biodiversidade de plantas do mundo abrigando uma variedade enorme de plantas que podem ser utilizadas no controle de ectoparasitas (CARVALHO et al., 2007). No Brasil estão catalogados 14 gêneros da família Anacardiaceae com 57 espécies sendo 14 delas restritas a flora brasileira (GONÇALVES, 2014), distribuídos entre as cinco regiões centro-oeste, nordeste, norte, sul e sudeste (FALCÃO, 1966). Dentre as espécies encontradas no Brasil está a espécie alvo do estudo *Schinus molle* L.

2.7.1.2 *Schinus molle* Linneu

Originária da América do Sul a espécie *Schinus molle* L., foi introduzida como planta ornamental e se estabilizou na América Central, México e nas regiões temperadas quentes e subtropicais do mundo (LUZ, 2011). Encontra-se como nativa no Brasil, Uruguai, Argentina e outros países da região Andina, sendo amplamente distribuída no Rio Grande do Sul (LORENZI; MATOS, 2008). Possui uma longa história de uso na medicina tradicional em toda a América do Sul, dos quais, muitos já consubstanciados por pesquisas científicas realizadas em vários países (RIZZINI et al., 1966; LORENZI; MATOS, 2008; GEHRKE, 2012).

Popularmente conhecida como aroeira mansa ou aroeira salsa, possui folhas finas, alternadas e lanceoladas que contêm óleos essenciais e constituintes fixos que são utilizados na medicina popular. É uma árvore muito cultivada para arborização urbana e paisagismo em geral no sul e sudeste do país, que pode atingir uma altura entre quatro a 10 metros de altura em condições favoráveis, com um tronco de até 35 cm de diâmetro, copa densa e casca áspera e espessa. As flores são pequenas, numerosas, branco-amareladas, enquanto os frutos são arredondados, globulosos com epicarpo de cor coral (LORENZI; MATOS, 2008) (Figura 1).



Figura 1. Árvore (A), folhas, flores (B) e frutos de *S. molle* (C).

Fonte: <https://selectree.calpoly.edu/tree-detail/schinus-molle>

A grande dispersão de *S. molle*, bem como outras espécies como *S. terebinthifolius* Raddi (aroeira vermelha), *S. lentiscifolius* March. (aroeira do campo) e *S. polygamus* Cav. (aroeira de espinhos) entre vários fatores, deve-se a facilidade de aclimação a diferentes áreas geográficas, bem como a utilização como planta ornamental, a importância na medicina tradicional, a utilização dos frutos como aromatizantes e flavorizantes de alimentos (GEHRKE, 2012).

O óleo-resinoso extraído das cascas é usado como cicatrizante, analgésico, para o tratamento de reumatismo e como purgativo. As cascas e folhas secas são usadas em processos febris, problemas do trato urinário, cistites, uretrite, blenorragia, tosse e bronquite, problemas menstruais com excesso de sangramento, além de gripe, diarreia e inflamações em geral (CRUZ, 1995); e sua seiva é usada como purgativa e diurética, e a planta inteira é empregada externamente como antisséptico no caso de fraturas ou feridas expostas (LORENZI; MATOS, 2008).

A composição dos óleos essenciais de *S. molle* revela substâncias com propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiespasmódicas, antipiréticas, anti-inflamatórias e cicatrizantes (CHANTRAINE et al., 1998; MARONGIU et al., 2004; LORENZI; MATOS,

2008). Além dessas, a atividade inseticida e repelente desses óleos foi descrita. (DEVECI et al., 2010; LJALEM; UNNITHAN, 2014 ; FERNANDES; FAVERO, 2014).

A análise fitoquímica mostra que o óleo essencial desta espécie é rico em mono e sesquiterpenos; taninos, resinas, alcaloides, flavonoides, saponinas esteroidais, esteroides e triterpenos também são encontrados na espécie (LORENZI; MATOS, 2008).

Diferentes substâncias foram identificadas em óleo essencial de *S. molle*, sendo as diferenças qualitativas e quantitativas dependentes das condições de plantio, idade, fisiologia, condições ecológicas, bem como extração e métodos analíticos utilizados. Essas condições devem ser levadas em consideração quando se deseja realizar uma avaliação completa e sistemática de diferenças quanto a composição (GEHRKE, 2012).

Com base nas diferentes atividades já relatadas, o estudo sobre a ação inseticida de *S. molle* se torna importante, uma vez que a planta pode representar uma ferramenta complementar num sistema de manejo integrado de pragas.

2.8 O Fenômeno de Resistência

Em 1957, a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu como resistência, "o desenvolvimento de uma capacidade em tolerar substâncias que seriam letais para a maioria de indivíduos em uma população normal da mesma espécie" (GALLO et al., 2002).

Mais tarde, em 1992, a OMS redefiniu resistência em artrópodes como, "uma característica hereditária que confere uma tolerância aumentada para um pesticida, ou grupo de pesticidas, de tal modo que os indivíduos resistentes sobrevivem à uma concentração do composto que seria normalmente letal para a espécie", embora o termo tolerância não tenha sido bem aplicado (COLES; DRYDEN, 2014).

Resistência e tolerância são termos muitas vezes usados como sinônimos, no entanto, a tolerância é uma tendência natural ou particular de determinada espécie, ao invés de um resultado de pressão de seleção (SCOTT, 1995).

Para Coles e Dryden (2014) "Resistência é a seleção de uma característica hereditária específica (ou características), em uma população de artrópodes, devido ao contato da população com um produto químico, que resulta num aumento significativo da percentagem da população que vai sobreviver a uma dose padrão desse produto químico (ou uma substância química estreitamente relacionada)".

Boyce (1974) cita como primeiro registro desse fenômeno a resistência de cochonilhas da família Diaspididae, *Quadraspidotus perniciosus* (Comstock, 1881) à sulfuretos, em maçãs, observada por Melander, em 1914. Este observou que populações de insetos separadas por localidade apresentavam diferenças quando à susceptibilidade ao inseticida, pois utilizando-se o mesmo fármaco algumas populações morriam enquanto outras permaneciam vivas (COLES; DRYDEN, 2014).

O controle de ectoparasitas de importância veterinária usando inseticidas neurotóxicos sintéticos tem sido progressivamente colocado em discussão pelo desenvolvimento de resistência aos inseticidas (ELLSE; WALL, 2014).

Insetos estão entre os organismos mais adaptáveis do planeta, conseguindo sobreviver por milhões de anos ajustando-se rapidamente às mudanças no seu ambiente. Muitas espécies, quando submetidas à constantes tratamentos químicos, desenvolvem vários mecanismos de defesa para a sua sobrevivência levando à diminuição do número de mortes e conseqüentemente à redução da eficácia do fármaco (MACORIS et al., 1999, TAYLOR et al., 2007).

O fenômeno da resistência aumentou exponencialmente desde a década de 1940, e hoje são mais de 500 espécies de pragas que apresentam algum nível de resistência a pelo menos um tipo de inseticida (TAYLOR et al., 2007).

Nem sempre falhas em programa de controle estão associadas à resistência, podem estar associadas à outros fatores como, por exemplo, armazenamento incorreto do produto, um inadequado tratamento ambiental e/ou do próprio animal ou mesmo as condições ambientais (DRYDEN; RUST, 1994; COLES; DRYDEN, 2014). Portanto, se um tratamento não fornece bom resultado, outras causas devem ser excluídas antes que a resistência seja considerada provável causa da ineficácia (COLES; DRYDEN, 2014).

A rápida adaptação das pulgas a alguns princípios ativos, e a aplicação de fármacos de forma desordenada, conduziram ao aparecimento de populações de pulgas resistentes (MELO et al., 2007). Principalmente com relação aos animais de companhia onde o proprietário muitas vezes utiliza o fármaco inseticida de maneira profilática. A falta do conhecimento sobre a biologia dos parasitos associada ao uso supressivo dos antiparasitários em animais de companhia leva ao fenômeno da resistência parasitária (BEIRÃO et al., 2009).

A pulga *C. felis* apresentou resistência ao DDT relatada pela primeira vez em 1952 (COLES; DRYDEN, 2014), nos dias atuais existem relatos de resistência de *C. felis* para diferentes classes químicas como os carbamatos, organofosforados, piretroides, piretrinas, organoclorados e fenilpirazoles (fipronil mais especificamente) (RUST; DRYDEN, 1997; SCHENKER et al., 2001, COLES; DRYDEN, 2014).

Com isso surge a necessidade de mudanças relacionadas ao controle desses insetos, utilizando-se novos fármacos e outras medidas de controle (GARCEZ et al., 2013). Segundo Carneiro et al. (2011) os produtos derivados de plantas que apresentam atividade biocida têm sido importante alternativa para o controle vetorial, apontando como vantagem o menor desenvolvimento de insetos resistentes.

A utilização de um programa que tem como alvos insetos adultos e estágios imaturos no ambiente pode diminuir a taxa de desenvolvimento de resistência (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). O controle integrado pode reduzir a frequência de tratamento inseticida ajudando a retardar o desenvolvimento da resistência (OTRANTO et al., 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Estudo

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no Convênio EMBRAPA, Sanidade Animal/UFRRJ e em parceria com o Laboratório de Química de Bioativos Naturais (LQBioN) – chefiado pelo professor Douglas Siqueira de Almeida Chaves, Departamento de Química (DeQuim), do Instituto de Ciências Exatas (ICE) da mesma universidade.

3.2 Obtenção de *Ctenocephalides felis felis*

Ovos e pulgas adultas de *C. felis felis* utilizados no estudo foram obtidas de uma colônia mantida desde 1998, nas dependências do LQEPV.

Para manutenção da colônia são utilizados gatos infestados duas vezes por semana com 50 casais de pulgas e realizadas coletas do material contido na bandeja das gaiolas, onde ficam os gatos. Esse material é coletado com auxílio de pincel e pá, logo após é peneirado e acondicionado em potes plásticos adaptados com tampas teladas para manutenção dos diferentes estágios de pulgas e mantidos em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio (tipo DBO) a $27\pm 1^\circ\text{C}$ e $75\pm 10\%$ até a emergência das pulgas adultas.

3.3 Obtenção do Material Vegetal

Folhas e frutos maduros de *S. molle* foram coletados durante o período de verão na cidade de Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil (GPS 22°31' 36.23 S; 44°04'31.62 W). A autorização de coleta do material botânico foi registrada no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob número 37893-1 e emitida em 15 de janeiro de 2013. Um espécime foi depositado no herbário do Instituto de Botânica (UFRRJ, Brasil) e identificado com o código RBR 35791. O material vegetal de *S. molle* foi seco à temperatura ambiente, protegido da luz e umidade. Em seguida as folhas foram trituradas manualmente e submetidas ao processo de extração.

3.3.1 Obtenção de constituintes fixos e voláteis de *S. molle*

Os constituintes fixos foram obtidos em parceria com o LQBioN. Extratos de folhas (100g) de *S. molle* foram obtidos através de extração por soxhlet com diferentes sistemas de solventes (1000 mL cada) de polaridade crescente *n*-hexano (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol (SmM). O tempo de extração foi de duas horas para cada solvente e posteriormente os extratos foram secos em evaporador rotativo, gerando ao final 1,5g de extrato seco de SmH, 1,2g de SmAe e 1,1g de SmM.

Os constituintes voláteis foram obtidos em parceria com o Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais, Departamento de Fitotecnia, da UFRRJ – chefiado pelo professor Marco André Alves de Souza. Amostras constituídas de partes aéreas (folhas secas ou frutos) de *S. molle* (50g cada) foram submetidas à hidrodestilação separadamente usando um aparelho do tipo Clevenger. Os óleos essenciais (OE) das folhas foram recolhidos após quatro horas e dos frutos após seis horas para avaliação da composição química, uma vez que a perfusão de

óleo essencial em frutas é mais difícil do que em folhas. Os OE's foram secos utilizando-se sulfato de sódio anidro e concentrados com gás Nitrogênio (N₂).

3.3.2 Análise de constituintes fixos e voláteis de *S. molle*

Os extratos fixos foram analisados por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e comparando os tempos de retenção com bibliotecas padrão (NIST e Adams).

Para a separação, a detecção e quantificação dos componentes de OE de *S. molle*, utilizou-se Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM) (Shimadzu QP-2010 Plus). As substâncias foram separadas utilizando-se uma coluna capilar de sílica (5% difenil e 95% dimetilsiloxano), com 30m x 0,25 milímetros x 0,25 µm de espessura de filme. Como gás de arraste foi utilizado hélio, a um fluxo de 1 mL.min⁻¹. A programação de temperatura da coluna foi de 60°C (2 min) com aumento de 5°C min⁻¹ até 110°C, seguido por um aumento de 3°C min⁻¹ até 150°C, e, finalmente, aumentando 15°C min⁻¹ até 290°C, sendo mantida constante esta temperatura final durante 15 min. A temperatura do injetor e a interface foram de 220°C e 250°C, respectivamente. Para separar e identificar as substâncias, amostras de 1,0µL do óleo essencial (10µL.mL⁻¹), nos tempos definidos, foram injetadas manualmente e no modo de splitless. Os espectros de massa foram obtidos com um detector quadrupolo operando a 70eV, com intervalo de massas de 40-400 m.z⁻¹.

A identificação e quantificação dos OE foram baseadas nas comparações dos tempos de retenção (TR), com os cálculos do índice de Kovacts e confrontados com os dados dos bancos NIST (2008) e o índice de retenção (IR) a partir da literatura (ADAMS, 1995). O IR foi obtido com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos, em C8-C40 (Sigma-Aldrich, EUA), e calculado com base na literatura (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

3.4 Delineamento Experimental

A metodologia empregada para a realização dos ensaios baseou-se nos guias da Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP) para teste com fármacos utilizados no controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos de Marchiondo et al. (2007).

3.4.1 Atividade inseticida *in vitro* dos extratos de folhas (*n*-hexano, acetato de etila e metanol) de *S. molle* sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Extratos das folhas (SmH, SmAe SmM) foram secos e ressuspendidos em acetona, a partir de uma solução-mãe à 200mg/mL. A partir desta, foram realizadas seis diluições seriadas 1:2 iniciando na concentração de 800 µg.cm⁻² até alcançar a concentração final, 25µg.cm⁻². Essa unidade de medida foi escolhida levando-se em consideração de que posteriormente o teste possa ser realizado também em canis e no próprio animal, medindo-se as superfícies de tratamento.

Para controle negativo foi utilizado apenas a acetona, e para controle positivo o Fipronil a 400 µg.cm⁻², para assegurar a viabilidade da colônia. Após esse procedimento, as diluições foram encaminhadas ao teste *in vitro*.

Para cada concentração foram realizadas duas repetições (R1 e R2), cada uma composta por uma tira de papel filtro com 10cm² (1cm de largura e 10cm de comprimento) impregnada com 0,2mL da respectiva diluição. Após o tratamento, as tiras permaneceram no ambiente para

secar por um período de 30 minutos. As tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 adultos não alimentados de *C. felis felis*, cinco machos e cinco fêmeas.

Os tubos foram vedados com tecido não tecido (TNT) e elástico, devidamente identificados de acordo com o grupo. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$. A avaliação de motilidade ocorreu nos tempos de 10 minutos, 30 minutos, uma hora, duas horas, 24 horas e 48 horas com auxílio de um microscópio estereoscópico. O critério de avaliação utilizado foi a motilidade, ou seja, qualquer inseto que apresentasse um mínimo de motilidade era considerado vivo. Foram registrados os números de insetos vivos e mortos em cada tempo avaliado.

3.4.2. Atividade inseticida *in vitro* dos óleos essenciais obtidos de folhas e frutos de *S. molle* sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Para o teste com OE de folhas (OEFo) e frutos (OEFr) de *S. molle*, foi preparada uma solução-mãe à 200mg/mL para cada, utilizando-se acetona como solvente. A partir desta, foram realizadas 10 diluições seriadas 1:2 iniciando na concentração de $800\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ até alcançar a concentração final, $1,562\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Para controle negativo foi utilizado apenas a acetona, e para controle positivo o Fipronil a $400\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$

A metodologia empregada no teste *in vitro* foi a mesma utilizada para avaliação dos extratos SmH, SmAe e SmM, a de impregnação em tiras de papel filtro, utilizando-se os mesmos tempos e critérios de avaliação descritos anteriormente.

3.4.3 Atividade *in vitro* de óleos essenciais obtidos de folhas e frutos de *S. molle* sobre ovos de *Ctenocephalides felis felis*

Para a realização do teste com ovos utilizou-se óleo essencial de *S. molle* impregnado em papel filtro a partir de uma solução mãe à 200mg/mL. Foram realizados dois testes isolados: um para fruto e outro para folha, ambos diluídos em acetona.

A partir da solução-mãe foram realizadas 10 diluições seriadas 1:2 iniciando na concentração de $800\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, sendo realizadas duas repetições (R1 e R2) para cada concentração. Cada tira foi impregnada com 0,2mL da respectiva diluição, totalizando 20 tiras, mais duas para o grupo controle negativo, duas para o controle positivo realizado com fenilpirazole (fipronil a $400\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e duas para controle realizado com um regulador de crescimento de insetos (piriproxifen $400\ \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$).

Após o tratamento, as tiras permaneceram no ambiente para secar por um período de 30 minutos. As tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 ovos de *C. felis felis*. Junto aos ovos foi adicionado um substrato necessário para o desenvolvimento larval a base de areia, farelo de trigo e fezes de pulgas adultas oriundas de colônia. Os tubos foram vedados com tecido não tecido (TNT) e elástico e mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$.

Para avaliação da eficácia do produto teste, o material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL 30 dias após a incubação e posteriormente foi realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário com auxílio de microscópio estereoscópico.

3.5 Cálculo de Eficácia, da Dose Letal 50 (DL₅₀) e Análise Estatística.

A avaliação da eficácia *in vitro* de *S.molle* sobre adultos de *C. felis felis* foi realizada seguindo-se a fórmula de Abbott (1987), com base na média das repetições (R1 e R2).

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{número médio de pulgas vivas grupo controle} - \text{número médio de pulgas vivas grupo tratado}}{\text{número médio de pulgas vivas do controle}} \times 100$$

A avaliação da eficácia *in vitro* de *S. molle* na interrupção do ciclo ovo-adulto foi realizada seguindo-se a fórmula de Abbott (1987), considerando-se o número médio de pulgas adultas que emergiram dos pupários nas repetições (R1 e R2).

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{número médio de pulgas adultas grupo controle} - \text{número médio de pulgas adultas grupo tratado}}{\text{número médio de pulgas vivas do controle}} \times 100$$

Para análise estatística e o cálculo da DL₅₀ utilizou-se o programa Minitab® versão 16 (2013, Minitab Inc., Leadtools, Lead Technologies, Inc.) levando em consideração a relação de sobrevivência e utilizando o método de análise probit. Para verificar a normalidade dos dados amostrais foi utilizado um teste de Shapiro-Wilk. Após análise dos dados, verificou-se uma distribuição normal e então foi escolhido o teste T paramétrico, para identificar diferenças específicas entre a mortalidade em 24 e 48 horas a partir do grupo controle, com nível de significância de 5% (p <0,05).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização Química

4.1.1 Extratos hexânico (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol (SmM) de *S. molle*

O extrato hexânico (SmH) mostrou oito compostos que foram quantificados: espatulenol, óxido de cariofileno, 14-heptadecenal, n-octadecanal, Z-2 octadecen-1-ol, octadecil-vinil-éter, lupenona, lupeol (Tabela 1), e outros dois compostos (3,42%) não identificados. Estes compostos foram identificados anteriormente no gênero *Schinus* e alguns em *S. molle* (CARVALHO et al, 2013;. MASATERU et al., 2008). Análise das frações metanólica (SmM) e acetato de etila (SmAe) não foram realizadas porque estes não apresentaram atividade no modelo biológico estudado neste trabalho, contudo, sabe-se que os extratos de média e alta polaridade de *S. molle* apresentam ácidos fenólicos, flavonoides, biflavonas e terpenos (MASATERU et al., 2008), resinas, alcaloides e taninos (FERRERO et al., 2006). Alguns estudos já relataram a ação destes metabólitos secundários no controle da infestação por pulgas. Monoterpenos e sesquiterpenos são conhecidos como agentes utilizados para controlar as pulgas; uso do inseticida de limoneno foi aplicado com sucesso para o controle de insetos parasitas de animais de companhia, onde uma aplicação semanal do fármaco foi capaz de reduzir as infestações de pulgas em 80% e era tóxico para todos os estágios de vida da pulga, sem efeitos adversos sobre a função hepática e renal (IBRAHIM et al., 2001).

Tabela 1. Principais substâncias obtidas, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de Massas, no extrato hexânico de *S. molle*

Substâncias	Percentual no extrato (%)
Espatulenol	8,86
Óxido de cariofileno	0,73
14-heptadecenal	1,36
n-octadecanal	8,72
Z-2 octadecen-1-ol	1,87
Octadecil-vinil-éter	21,56
Lupenona	50,52
Lupeol	2,96
Compostos não identificados	3,42
TOTAL	100

Neste estudo, a CG-EM do extrato hexânico revelou o terpenoide lupenona como constituinte majoritário no extrato hexânico. Assim este constituinte poderia ser o responsável pela ação tóxica de SmH. A lupenona é um triterpeno que apresenta atividades antidiabética, antiapogênica (NA et al., 2009) e antiprotozoária sobre *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum* relatadas (POLANCO-HERNANDEZ et al., 2013; RODRIGUEZ; PINTO, 2014).

Terpenos constituem a classe mais variada estruturalmente de produtos naturais de plantas. Muitos foram isolados e avaliados quanto à toxicidade frente a diferentes insetos, tendo como atividades relatadas a inibição de desenvolvimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressão de apetite, entre outros (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

Não foi encontrada atividade inseticida, especificamente, de lupenona na literatura. No entanto, um grande número de novos triterpenos com atividade biológica vem sendo isolado a partir de extratos de sementes e folhas de *A. indica* (LUO et al., 1999). Os limonoides, por exemplo, são conhecidos pelo fato de apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no seu crescimento, seja pela inibição de sua alimentação (SIMÕES et al., 2000).

Deveci et al. (2010) realizaram uma pesquisa visando determinar as atividades repelente sobre baratas e antibacteriana dos óleos essenciais e extratos hexânicos obtidos das folhas e frutos de *S. molle*. Para obtenção e avaliação química dos extratos utilizou-se o método de soxhlet e cromatografia gasosa, respectivamente. Foram identificados dezesseis componentes (72,14% do total de componentes) nos extratos. Os principais componentes do extrato de folha foram germacreno D (20,77%) e beta-cariofileno (13,48%). O extrato do fruto não foi avaliado quimicamente, pois apresentou baixa atividade no teste *in vitro*.

Germacreno D, tem sido relatado como constituinte com atividade repelente contra o gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* e o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (BIRKETT et al., 2008; LIU et al., 2010), enquanto beta-cariofileno, foi relatado como sendo repelente sobre *Ulomoides dermestoides* conhecido como besouro do amendoim (SILVA et al., 2012). Messer et al. (1990) concluíram que o β -cariofileno presente em resinas produzidas por árvores do gênero *Dipterocarpus* era o constituinte responsável pela defesa contra cupins *Neotermes* spp.

4.1.2. Óleo essencial de folhas (OEFo) e frutos (OEFr)

A análise do óleo de folhas e frutos de *S. Molle* (OEFo e OEFr) mostrou diferenças na composição e concentrações químicas (Tabela 2, figura 2). As principais substâncias encontradas nas folhas foram espatulenol e cubenol (sesquiterpenos), nos frutos foram terpinol e mirtenal (monoterpenos) e o espatulenol.

O tempo de extração de seis horas foi o mesmo que o recomendado por Azevedo et al. (2002), que em estudo com seis quimiotipos de *Hyptis suaveolens*, conhecida como mentrasto, utilizou 360 minutos de hidrodestilação; e o mesmo utilizado por Cole (2008) para extração de óleo essencial de frutos de *S. terebinthifolius*.

Silva et al. (2005) utilizaram o mesmo período utilizado no presente estudo, de seis horas (nos tempos de 1h, 2h, 4h e 6h), para extração por hidrodestilação de óleo essencial da semente de *S. molle* e verificaram que o rendimento é diretamente proporcional ao tempo de extração. No entanto, Santos et al. (2014) avaliaram que o rendimento de óleo essencial de sementes e folhas de *S. terebinthifolius*, nos tempos de 2,5h, 4h 5,5h e 7h, não sofreu alteração em função do tempo de hidrodestilação usando aparato de Clevenger.

Nicolini et al. (2009) realizaram estudo comparando a eficiência do método utilizado no presente estudo com outro “arraste a vapor”. Utilizaram frutos de *S. terebinthifolius*, realizando a extração durante um período de sete horas e verificaram que o arraste a vapor forneceu maior teor de óleo essencial em todos os tempos de extração e que o rendimento foi diretamente proporcional ao tempo de extração para ambos os métodos. No presente estudo, o único método utilizado para obtenção de óleo essencial foi a hidrodestilação em aparelho de Clevenger que em comparação ao sistema de soxhlet para extração de macerado apresentou resultado superior.

Oliveira et al. (2012) realizaram experimento e verificaram o tempo ideal para extração de óleo essencial de folhas de *Mentha x piperita* (hortelã-pimenta) utilizando o método de hidrodestilação em aparelho de Clevenger. O volume de óleo extraído foi registrado a cada 30 minutos e após 60 minutos de hidrodestilação ocorreu estabilização do volume extraído. Valmorbidia et al. (2006) relataram 150 minutos de extração de óleo essencial de folhas para a mesma planta, demonstrando que essa diferença no tempo ocorre não apenas entre diferentes

espécies. Ehlert et al. (2006) verificaram tempo superior de hidrodestilação, chegando a registrar 230 minutos para *Eucalyptus globulus* (eucalipto-comum).

Ljalem e Unnithan (2014) em estudo para identificação de compostos químicos de *S. molle* utilizaram um tempo de hidrodestilação de três horas. O tempo foi semelhante ao utilizado no presente estudo.

Cavalcanti et al. (2015) evidenciam em seu trabalho que embora alguns trabalhos tenham relatado o tempo de 90 minutos para hidrodestilação de *S. molle*, esses períodos de tempo não são suficientes para a extração completa dos constituintes essenciais do óleo, pois puderam observar o tempo de até quatro horas para que 80% dos sesquiterpenos fossem extraídos, demonstrando que voláteis com alto peso molecular e polares tendem a ter menor difusibilidade exigindo maior tempo de extração. Portanto, o tempo de extração adequado para se conseguir a avaliação química real do óleo essencial depende de um tempo de extração um pouco maior, devendo-se considerar também o custo x benefício.

O conhecimento da influência do tempo no rendimento contribui por tornar o processo menos oneroso, mais rápido e menos destrutivo com relação aos compostos mais leves (SANTOS et al., 2014).

Tabela 2. Perfil químico do óleo essencial de *S. molle* obtido por hidrodestilação de folhas e frutos secos à temperatura ambiente protegido da luz e umidade.

OE	TR	Substâncias	IK	ÍR	OEFo	OEFr	Método id.
1	5.580	α -Pinenol	939	935	3,4	Tr	a, b
2	6.881	Sabinol	976	977	0,6	—	a, b
3	7.048	β -Pinenol	980	982	6,7	Tr	a, b
4	12.984	Linalol	1098	1114	—	1,0	a, b
5	14.108	Metil Octanoato	1120	1133	Tr	4,3	a, b
6	14.283	<i>p</i> -Ment-2-en-1-ol	1121	1136	Tr	1,8	b
7	14.403	α -Camfolenal	1125	1138	1,1	Tr	a, b
8	15.294	<i>trans</i> -Pinocarveol	1139	1154	6,2	5,7	a, b
9	15.432	<i>cis</i> - β -Terpinol	1144	1156	Tr	2,0	a
10	15.703	<i>trans</i> -Verbenol	1144	1161	2,8	Tr	b
11	16.549	Pinocarvona	1162	1176	2,2	Tr	a
12	17.293	α -Felandren-8-ol	1166	1189	1,6	4,6	a
13	17.521	4-Terpinol	1177	1193	1,1	18,5	a, b
14	18.622	Mirtenal	1193	1211	5,1	20,9	a, b
15	18.853	Mirtenol	1194	1215	3,9	4,3	a, b
16	19.520	Verbenona	1204	1226	2,0	4,0	a, b
17	20.334	<i>cis</i> -Carveol	1217	1239	0,8	—	a, b
18	31.406	β -Cariofileno	1418	1425	4,6	1,3	a, b
19	33.325	α -Cariofileno	1454	1463	0,8	Tr	a, b
20	33.557	Aloaromadendreno	1461	1467	4,3	Tr	a, b
21	34.634	γ -Muuroloeno	1477	1489	2,3	2,3	b
22	35.407	Biciclogermacreno	1494	1505	2,3	1,1	b
23	35.578	α -Muuroloeno	1499	1508	1,4	Tr	a, b
24	36.216	<i>trans</i> - β -Guaieeno	1500	1523	6,2	0,8	b
25	36.488	γ -Cadineno	1513	1529	2,8	Tr	a, b
26	37.306	α -Cadineno	1538	1548	0,9	Tr	a, b
27	39.250	Germacrenol	1574	1592	1,2	—	a, b
28	39.504	Espatuleno	1576	1598	14,5	11,7	a, b
29	39.809	Globulol	1583	1607	2,1	1,2	a, b
30	40.138	Gleenol	1585	1618	2,2	—	b
31	40.510	Ni		1631	1,3	—	
32	40.703	Humuleno epoxide II	1606	1638	1,0	Tr	b
33	40.880	(1, 10-di-epi)-Cubenol	1614	1644	3,0	1,1	b
34	41.297	(1-epi)-Cubenol	1627	1658	0,4	—	b
35	41.765	Cubenol	1642	1674	13,0	8,2	a, b
36	42.082	α -Cadinol	1653	1685	1,0	2,4	a, b

Identificação: OE- Ordem de eluição, TR- Tempo de retenção em minutos; IK- Índice de Kovats; IR- Índice de Retenção; OEFo- óleo essencial da folha; OEFr- óleo essencial do fruto; Método id-método de identificação; a – CG-EM (Nist Library, 2008); b – Espectro de massa da literatura (Adams, 1995) com ajuda do Índice de Retenção; uma concentração inferior a 0,1% (tr); não detectado (-); não identificado (ni).

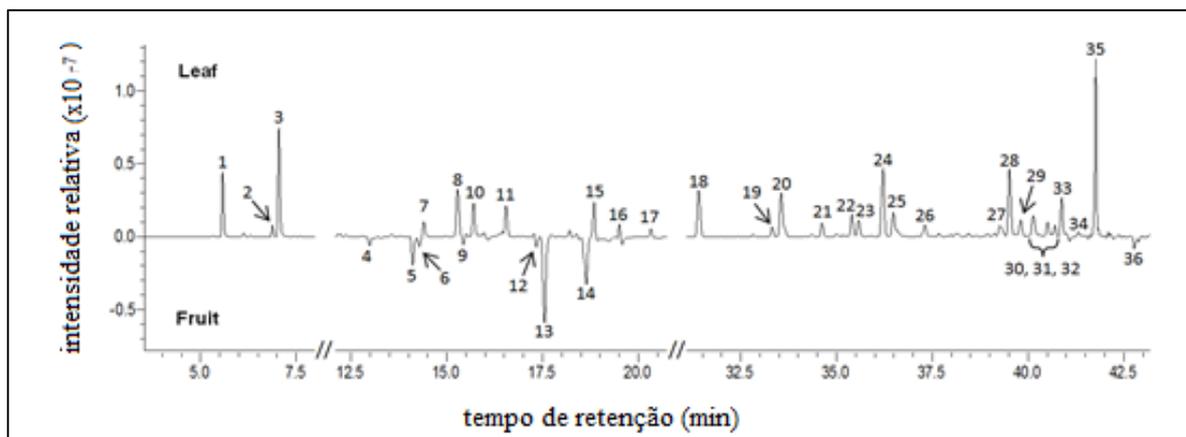


Figura 2. Gráfico de subtração do óleo essencial *Schinus molle* obtido por hidrodestilação das folhas (acima) e frutos (abaixo), considerando-se a diferença (subtração) dos mesmos componentes (ou mesmo tempo de retenção). Os números na ordem de eluição são listados na Tabela 2.

A composição química dos óleos essenciais foi consistente com as conclusões de outros estudos, exceto para a porcentagem de cada substância. Além disso, não foram detectados os monoterpenos mirceno, felandreno e limoneno (MURRAY et al., 2005; SILVA et al., 2005; BENZI et al., 2009; ZAHED et al., 2010; BARROSO et al., 2011; GOMES et al., 2013; MARTINS et al., 2014)

Segundo Ferri (1995) os OE's normalmente são constituídos pelos terpenos e basicamente elaborados nas folhas, armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular. Corroborando a afirmação do autor, no presente estudo, utilizando-se CG-EM para avaliação química de OE's de folhas e frutos, pode-se verificar a presença de um maior número de constituintes no OEFO.

Os resultados demonstram que o método de hidrodestilação fornece resultado superior, quando à identificação de constituintes, àquele apresentado quando o material é obtido por soxhlet, embora a literatura relate que o soxhlet pode fornecer melhor rendimento de material extraído (SILVA et al., 2005). Ambos os métodos utilizados neste estudo são definidos pela Farmacopéia Brasileira para a obtenção desses produtos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

Pode-se observar no presente estudo que 35 constituintes foram identificados no OEFO e 30 no OEFR. Deveci et al. (2010) utilizando o mesmo método de hidrodestilação e avaliação de constituintes das folhas e frutos de *S. molle* verificou a presença de 24 constituintes no OEFO sendo representados principalmente pelos sesquiterpenos δ -cadineno (11,28%) e α -cadinol (10,77%), ao passo que o OEFR não foi avaliado quimicamente devido à baixa atividade apresentada em teste *in vitro* frente à barata *Blatta orientalis*. Esses autores puderam observar que o extrato e óleo da folha de *S. molle* apresentaram atividade repelente sobre os insetos citados, sendo o último ainda mais eficaz, pois conseguiu repelir 100% dos insetos testados.

As substâncias encontradas por Deveci et al. (2010), como constituintes principais, apresentam atividade inseticida relatada na literatura e têm sido classificados como repelentes contra alguns artrópodes (HE et al., 1997; YATAGAI et al., 2002). Rossini et al. (1996) também relataram δ -cadineno como principal componente do óleo de folha. No presente estudo, pode-se observar no OEFO a presença desses constituintes identificados nos estudos de Deveci et al. (2010) e Rossini et al. (1996).

Cavalcanti et al. (2015) utilizaram o tempo de seis horas de hidrodestilação em aparato Clevenger, o mesmo utilizado no presente estudo, e verificaram que cubenol (27,1%), óxido de cariofileno (15,3%) e espatulenol (12,4%) representaram os principais componentes do óleo essencial das folhas de *S. molle* de 21 constituintes identificados, enquanto β -pineno (36,3%) e α -pineno (20,3%), germacreno D (12,1%) e espatulenol foram os principais constituintes encontrados no fruto de 20 identificados. Gehrke (2012) em seu trabalho cita que os compostos α -pineno e β -pineno são bastante comuns em óleos essenciais de espécies do gênero *Schinus*.

Assim como no estudo de Cavalcanti et al. (2015), neste estudo, verificou-se que os sesquiterpenos cubenol e espatulenol foram identificados entre os constituintes majoritários no OEFO; óxido de cariofileno não foi encontrado. Já no OEFr pode-se observar diferença na constituição pois os principais constituintes foram terpinol e mirtenal, ambos monoterpenos, seguido de espatulenol, que assim como no estudo de Cavalcanti et al. (2015) apresentou-se como um dos constituintes majoritários em OEFO e OEFr. No presente estudo, α e β -pineno apresentaram pouca representatividade em OEFr, apenas traços.

Diferente do presente estudo, Rodrigues et al. (2011) em análise dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *S. molle* identificaram apenas cinco substâncias (monoterpenos) por CG-EM, destes o mirceno foi o constituinte majoritário. Abdel-Sattar et al. (2010) encontraram *p*-cimeno como componente majoritário do óleo essencial das folhas de *S. molle*. A CG-EM foi muito semelhante à técnica usada por esses autores. Houve variações nos teores de óleo essencial de tecidos vegetais, devido a fatores intrínsecos controlados por traços genéticos da planta. Além disso, as características quantitativas são suscetíveis a efeitos edafoclimáticos, como a sazonalidade, a disponibilidade de água e nutrientes do solo (CAVALCANTI et al. 2015), bem como luminosidade, temperatura, altitude, disponibilidade de água e nutrientes do solo. Em *Lippia sidoides*, conhecida como alecrim-pimenta, por exemplo, foram detectados diferentes monoterpenos como constituintes majoritários provenientes de espécimes coletados em duas áreas distintas (LIMA et al., 2003).

Bandoni (2000) aponta que a composição química de plantas de mesma espécie depende de diversos fatores, tais como estado fenológico da planta, fatores geográficos, ecológicos, variabilidade genética, processo de extração empregado, entre outros, o que justifica a diferença de constituintes verificada em diferentes trabalhos. A similaridade de constituintes identificados no presente estudo com os encontrados no estudo de Cavalcanti et al. (2015) pode ser devido ao local de coleta. Folhas e frutos de *S. molle*, em ambos estudos, foram coletados em mesma cidade e, portanto, os fatores relacionados à ecologia e geografia podem ter sido determinantes.

Bernhard et al. (1983) ao analisarem amostras do OEFr de *S. molle*, identificaram a presença majoritária de γ -cadineno (17,41%) e cadinol (17,39%) ao passo que no presente estudo foram apenas identificados traços (menos de 0,1%) de γ -cadineno e baixa representatividade de cadinol (2,4%) no OEFr.

O óleo essencial de frutos de *S. molle* cultivado na Tunísia foi analisado por Bendaoud et al. (2010) sendo identificados como constituintes principais o α -felandreno (46,52%), β -felandreno (20,81%), α -terpineol (8,38%), α -pineno (4,34%), β -pineno (4,96%) e *p*-cimeno (2,49%). Os óleos essenciais foram obtidos por destilação a vapor dos frutos. Destes constituintes, apenas α -pineno e β -pineno foram identificados no presente estudo, apresentando uma concentração inferior a 0,1%.

Gehrke (2012) realizou estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies de *Schinus* distribuídas no Rio Grande do Sul. A extração ocorreu por hidrodestilação e a composição química determinada através de CG-EM. Aproximadamente cento e trinta e cinco compostos foram identificados a partir dos óleos essenciais. Os óleos volatéis das espécies analisadas apresentaram como componentes majoritários nas folhas, os monoterpenos α -pineno, β -pineno, δ -2-careno, limoneno; e os sesquiterpenos germacreno-D, biciclogermacreno, δ -cadineno,

espatulenol, óxido de cariofileno e cadinol. Já nos OEFr's foram identificados os monoterpenos α -pineno, β -pineno e mirceno; e os sesquiterpenos *epi*-cubenol, cubenol, espatulenol, óxido de cariofileno e cadinol. As variações quantitativas entre os diferentes constituintes nos óleos das diferentes espécies foram marcantes. Desses constituintes identificados em espécies de *Schinus*, apenas δ -2-careno, limoneno, germacreno-D, óxido de cariofileno e mirceno não foram encontrados no presente estudo. Mais uma vez reforça-se que variações em conteúdo de óleos essenciais podem estar relacionadas a fatores intrínsecos, controlados pelas características genéticas de plantas (GOMES et al., 2013), e fatores externos. Santos et al. (2013) avaliaram a composição química do óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolius*, obtido por hidrodestilação. O rendimento do óleo foi de 0,8%, sendo identificados 37 constituintes químicos. Os componentes principais foram germacreno D (25,0%), (*E*)- β -cariofileno (17,5%) e δ -elemeno (10,5%).

4.2 Atividade Inseticida *In Vitro* dos Extratos de Folhas (*n*-hexano, acetato de etila e metanol) de *S. molle* Sobre Adultos de *Ctenocephalides felis felis*

A mortalidade de *C. felis felis* adultas induzida pelos extratos hexano (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol (SmM) foi significativamente diferente do grupo controle no tempo de 48 horas, SmH ($p = 0,0034$), SmM ($p = 0,0062$) e SmAe ($p = 0,0051$). No tempo de 48h 100% ($n=10$) das pulgas estavam vivas no grupo controle. O extrato SmH revelou eficácia de 100% na maior concentração, $800 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, enquanto SmAe e SmM apresentaram eficácia de 5% e 40%, respectivamente, nessa concentração.

Pode-se observar que o extrato SmH apresentou aumento na eficácia de acordo com o aumento da concentração. A eficácia diretamente proporcional a dose ou concentração do fármaco tem relação com a biodisponibilidade para que o princípio ativo seja absorvido pelo parasito. Alguns fatores influenciam nessa absorção, como a solubilidade e inversamente a saturação de concentrações crescentes (BATISTA et al., 2013a).

Entre os extratos testados, em diferentes concentrações, somente o SmH mostrou atividade inseticida com os valores de DL_{50} de 524,80 e $168,57 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ após 24 e 48 horas, respectivamente. Após 48 horas, SmM e SmAe mostraram máxima eficácia de 40%, motivo pelo qual não foi possível calcular a DL_{50} (Tabela 3). O aumento de concentração não interferiu na eficácia induzida pelos extratos SmM e SmAe. Esta resposta não-linear pode ser com base no sinergismo entre os constituintes presentes nos extratos.

O fipronil foi escolhido para ser utilizado no estudo como controle positivo, pois trata-se de um inseticida fenilpirazole (COLE et al., 1993), com boa atividade seletiva contra os insetos (NARAHASHI et al., 2010). Isto é, aprovado globalmente para tratamento e controle de infestações por pulgas e carrapatos em cães e gatos (Taylor, 2001). A droga interfere na neuromodulação do inseto, levando a morte por hiperexcitação (RAUH et al., 1990).

Tabela 3. Percentuais de mortalidade de *Ctenocephalides felis felis* 24h e 48h após teste de impregnação em papel filtro com extratos hexano (SmH), acetato de etila (SmAe) e metanol de *Schinus molle* (SmM).

Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Extratos de <i>Schinus molle</i>					
	Hexano (SmH)%		Metanol (SmM)%		Acetato de etila (SmAe)%	
Tempo	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
800	75	100	10	40	0	5
400	25	55	20	40	0	15
200	35	65	10	35	5	20
100	0	25	5	20	0	20
50	0	10	20	35	20	40
25	10	20	25	40	5	25
DL ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	524,80	168,57	-	-	-	-
^a Teste norm.	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
^b p valor	0,093	0,0034	0,125	0,0062	0,152	0,0051

a – Teste de Normalidade (Shapiro wilk), b - p valor (tratado vs. controle), t-test e análise proibit utilizando Minitab® 16 (2013, Minitab Inc., LEADTOOLS, LEAD Technologies, Inc.).

Não foram encontrados na literatura trabalhos realizados a partir de extratos de *S. molle* sobre pulgas. No entanto Batista et al. (2013a) realizaram avaliação de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, popularmente conhecido por alecrim, sobre a pulga *C. felis felis* nas concentrações de 800 a 1,562 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ utilizando a mesma metodologia empregada no presente estudo, de impregnação em tiras de papel filtro. Esses autores verificaram que *R. officinalis* apresentou alta atividade inseticida *in vitro* com resposta proporcional a concentração na faixa de 1,562 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, com valores de eficácia máxima de 95%. A partir dos valores de mortalidade de *C. felis felis* foi possível calcular a DL₅₀= 31,784 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ que em comparação ao obtido com extrato hexânico de *S. molle* apresentou resultado superior pois a dose necessária para matar 50% dos indivíduos foi menor.

Batista et al (2013b) também avaliaram a atividade do extrato de *Pilocarpus pennatifolius*, jaborandi, frente à *C. felis felis* nas concentrações de 400 a 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ diluídas em acetona e impregnadas em tiras de papel filtro e verificaram que o extrato apresentou eficácia a partir da concentração de 25 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ variando entre 5 e 35 %, no tempo de 48 horas, não apresentando resposta linear conforme o aumento da concentração.

Deveci et al. (2010) avaliaram a atividade repelente de extratos hexânicos e óleos essenciais de folhas e frutos de *S. molle* sobre adultos de *Blatta orientalis*, barata oriental, e verificaram que produtos obtidos dos frutos não tiveram boa atividade e que tanto o extrato hexânico quanto o OEFO apresentaram atividade repelente satisfatória. A atividade repelente do OEFO foi ainda superior à do extrato hexânico. A diferença na atividade do OEFO para o extrato hexânico deve-se provavelmente a presença de constituintes com maior potencial de atividade repelente no óleo essencial. Os constituintes que foram os majoritários no OEFO e extrato hexânico da folha apresentam atividade repelente relatada (HE et al., 1997; MESSER et al., 1990; YATAGAI et al., 2002; BIRKETT et al., 2008; LIU et al., 2010; SILVA et al., 2012).

4.3 Atividade Inseticida *In Vitro* dos Óleos Essenciais Obtidos de Folhas e Frutos de *S. molle* Sobre Adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Os testes avaliando a atividade do óleo essencial de *S. molle*, OEFO e OEFR, contra *C. felis felis* foram realizadas por dois ensaios, e os percentuais de mortalidade e eficácia de ambos os testes podem ser vistos na Tabela 4.

Ambos os testes (OEFO e OEFR) apresentaram eficácia com 24 e 48 horas após a exposição. O controle negativo utilizado no teste com OEFR apresentou 100% (n=10) de pulgas vivas em 48h, enquanto o controle do teste com OEFO apresentou média das repetições R1 e R2 de 95% (n=9,5) de pulgas vivas no tempo de 24h e 48h. OEFR atingiu 100% de eficácia apenas com a concentração mais elevada (800 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$), em 24 e 48 horas. No tempo de 24 horas a mortalidade induzida por OEFR não foi significativamente diferente do controle ($p=0,0855$), já em 48 horas diferiu ($p = 0,0201$). O OEFO atingiu 100% de eficácia em menor concentração (50 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e mostrou grande diferença estatística 24 horas ($p = 0,0003$) e 48 horas ($p = 0,0002$) após a exposição quando comparado ao controle.

Os OEFR's demonstram valores de DL_{50} mais elevados (353,95 e 138,22 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$), quando comparado com OEFO (12,02 e 9,11 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) às 24 e 48 horas. Então pode-se dizer que nas condições em que o estudo foi realizado, OEFO apresentou eficácia superior ao OEFR, demonstrando elevada atividade já no tempo de 24 horas, contra *C. felis felis*.

Tabela 4. Percentual de mortalidade e eficácia do óleo essencial de folhas e frutos de *Schinus molle* sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*, 24h e 48h após teste de impregnação em papel filtro.

Concentração ($\mu\text{g.cm}^{-2}$)/Tempo	Frutos				Folhas			
	Mortalidade%		Eficácia%		Mortalidade%		Eficácia%	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
800	100	100	100	100	100	100	100	100
400	35	70	35	70	100	100	100	100
200	40	70	40	70	100	100	100	100
100	0	10	0	10	100	100	100	100
50	5	10	5	10	100	100	100	100
25	0	15	0	15	50	55	47,4	52,6
12,5	20	30	20	30	40	45	36,8	42,1
6,25	0	0	0	0	45	45	42,1	42,1
3,125	5	5	5	5	15	35	10,5	31,6
1,562	0	5	0	5	10	15	5,3	10,5
DL ₅₀ ($\mu\text{g.cm}^{-2}$)	353,95	138,22	-	-	12,02	9,1	-	-
^a Teste norm.	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
^b p valor	0,0855	0,0201	-	-	0,0003	0,0002	-	-

a – Teste de normalidade (Shapiro wilk), b - p valor (tratado vs. controle), t-test e análise probit utilizando Minitab® 16 (2013, Minitab Inc., LEADTOOLS, LEAD Technologies, Inc.).

Há um crescente corpo de evidências indicando o valor potencial do óleo essencial como agente de controle contra uma gama de ectoparasitas artrópodes, especialmente ácaros, piolhos e carrapatos. No entanto, os resultados publicados sobre as pulgas são escassas e não conclusivas. De acordo com uma recente revisão, não há estudos específicos sobre a eficácia de óleos essenciais contra pulgas (ELLSE; WALL, 2014).

Santos et al. (2007) realizaram estudo avaliando a atividade inseticida de óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolius*, planta de mesmo gênero que a utilizada no presente estudo, sobre *Acanthoscelides obtectus* e *Zabrotes subfasciatus*, insetos que atacam o feijão armazenado, utilizando acetona como solvente para as diluições que variaram de 10^{-2} a 10^{-8} . Foi realizado teste de impregnação em papel filtro colocado em placa de petri para avaliação do efeito do óleo em contato com o inseto. Avaliou-se a mortalidade dos insetos após 24 e 48, onde pode-se observar 100% de mortalidade de *A. obtectus* na faixa de 10^{-2} e 10^{-7} no tempo de 48 horas e de 100% de mortalidade de *Z. subfasciatus* nas concentrações de 10^{-2} e 10^{-3} após 24 horas. Esses autores, no entanto, não realizaram avaliação da composição química do óleo para que a luz da literatura pudessem discutir os resultados encontrados.

Óleos essenciais de *S. molle* (frutas e folhas) mostraram atividade inseticida contra *Trogoderma granarium* (besouro-do-arroz) e *Tribolium castaneum* (besouro da farinha). Os dados sobre a mortalidade cumulativa durante seis dias de exposição mostram que o óleo dos frutos provocou uma mortalidade de 50% a 250 μL e de mortalidade de 93,3% a 1000 μL , enquanto que a obtida a partir de folhas foi menos tóxico, a mortalidade foi de 50% em 500 μL

e 68,8% a 1000 mL. Estes resultados são importantes uma vez que a mortalidade aumentou com o tempo de exposição mais longo (ABDEL-SATTAR et al. 2010).

Outros estudos mostram que os óleos essenciais de *Schinus molle* foram eficientes como repelente em 176,0, 70,0 e 35,38 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, fazendo com que 100%, 95% e 82,5% de mortalidade contra *Triatoma infestans* respectivamente (CHOPA et al., 2006).

Rodrigues et al. (2011) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *S. molle* sobre *Tenebrio molitor* L., uma importante praga em grãos armazenados, e obtiveram como resultado a atividade inseticida do óleo, tanto por mortalidade como por repelência. Na avaliação química do óleo o monoterpene mirceno foi identificado como o composto majoritário. De acordo com Viegas Júnior (2003) vários monoterpenos já foram isolados e sua ação tóxica frente a diferentes insetos foi comprovada, pois esses compostos são voláteis e podem penetrar nas vias respiratórias dos insetos e interferir rapidamente nas suas funções fisiológicas. Assim como os demais trabalhos que avaliaram a atividade inseticida de *S. molle*, os terpenos estão entre os constituintes mais identificados, sendo muitas vezes majoritários.

Santos et al. (2013) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de *S. terebinthifolius*, sobre *Hypothenemus hampei*, conhecido como broca-do-café. O óleo essencial foi diluído em acetona e aplicado aos insetos em diferentes concentrações (10^{-2} a 10^{-8}) por aplicação tópica que revelou 97,5 a 77,5% de mortalidade e exposição em superfície contaminada com 100,0 a 30,0% de mortalidade. As taxas de mortalidade foram avaliadas após 24 e 48 horas do início do experimento, conforme realizado neste estudo. Embora sejam de espécies diferentes, os constituintes identificados no óleo de *S. terebinthifolius* neste estudo de Santos et al. (2013) são os mesmos já relatados por outros autores que avaliaram a composição química da espécie *S. molle*.

Em estudo realizado por Fernandes e Favero (2014) também se realizou teste de impregnação em papel filtro visando-se avaliar o efeito do óleo essencial de folhas de *S. molle* L. no controle de *Sitophilus zeamais* em grãos armazenados. A exposição do inseto em superfície de contato foi realizada a partir da aplicação das diluições utilizando acetona como solvente. Após a evaporação do solvente, o papel filtro era colocado em placa de Petri, juntamente com 10 insetos adultos com um pouco de milho de pipoca. Após 24 horas foi contado o número de indivíduos mortos. Nas condições em que o estudo foi realizado o óleo essencial de *S. molle* apresentou efeito inseticida para o *S. zeamais*. Nesse mesmo estudo foi realizado teste de fumigação, repelência e aplicação tópica no inseto. O óleo foi eficaz no controle de *S. zeamais* por meio das vias de intoxicação por contato, fumigação e repelência.

Assim, os resultados do presente trabalho permitem inferir que os óleos essenciais das folhas e frutos de *S. molle* podem ter atividade repelente contra a pulga do gato, uma vez que o óleo da folha causou 100% de mortalidade a $50\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.

4.4 Atividade *In Vitro* de Óleos Essenciais Obtidos de Folhas e Frutos de *S. Molle* Sobre a Interrupção do Desenvolvimento Ovo-Adulto de *Ctenocephalides felis felis*

Óleos essenciais obtidos das folhas e frutos de *S. molle* apresentaram baixa eficácia na interrupção do desenvolvimento ovo-adulto de *C. felis felis*, revelando uma diferença estatística não significativa ($p>0,05$) quando comparados ao controle negativo. Ambos apresentaram eficácia máxima de 10,53%. O OE da folha apresentou, em sua maior atividade, 10,53% de eficácia na concentração de $800\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ enquanto na concentração de $100\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ apresentou 5,26%. O OE do fruto apresentou 10,53% de eficácia nas concentrações de 800 e $50\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 5,26% nas concentrações de 200 e $3,125\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. As demais concentrações para folhas e frutos apresentaram 0% de eficácia.

O cálculo pela fórmula de Abbott (1987) para os controles positivos, fipronil e piriproxifen, revelou 100% de eficácia, onde o número médio para cada um foi de 10 adultos emergidos, demonstrando que o método foi aplicado corretamente. Os números médios de pulgas adultas emergidas dos pupários bem como o percentual de eficácia podem ser observados na tabela 5.

Tabela 5. Número médio de pulgas adultas recuperadas 30 dias após teste com fruto e folha de *Schinus molle*, e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.

Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Número médio de pulgas adultas		Eficácia	
	Fruto	Folha	Fruto	Folha
800	8,5	8,5	10,53	10,53
400	9,5	10	0	0
200	9	9,5	5,26	0
100	10	9	0	5,26
50	8,5	9,5	10,53	0
25	9,5	10	0	0
12,5	9,5	10	0	0
6,25	9,5	9,5	0	0
3,125	9	10	5,26	0
1,562	9,5	9,5	0	0

Uma vantagem dos óleos essenciais em relação aos tratamentos convencionais de ectoparasitas pode encontrar-se em sua eficácia ovicida. Por esse motivo alguns autores têm centrado no uso de óleos essenciais a partir de plantas como potenciais agentes bioativos contra formas imaturas de ectoparasitas (ELLSE; WALL, 2014).

Alguns autores descreveram a atividade ovicida de óleos essenciais em ácaros (GEORGE et al., 2010), moscas (CALLANDER; JAMES, 2012) e larvas de mosquitos (ELLSE; WALL, 2014). Neste estudo, no entanto, verificou-se que óleos essenciais de folhas e frutos de *S. molle* não apresentaram atividade significativa na inibição do desenvolvimento ovo-adulto de *C. felis felis*. A maior eficácia obtida foi de 10,53% tanto para o OEFO quanto para o OEFr.

Estudos da atividade de extratos ou óleos essenciais de *S. molle* sobre a inibição do desenvolvimento ovo a adulto de *C. felis felis* não foram encontrados na literatura.

Akinneye et al. (2006), avaliando o potencial inseticida de pós feitos a partir da casca da raiz, casca do caule e folhas de *Cleisthopholis patens*, revelaram que as cascas da raiz e caule inibiram o desenvolvimento de ovos para adultos da traça-indiana-da farinha (*Plodia interpunctella*). Shojaeddin et al. (2008) testaram o óleo essencial de *Carum copticum* por fumigação para o controle de *P. interpunctella* e observaram que os insetos adultos foram mais sensíveis do que as outras fases da vida. Eles também observaram que as larvas de último estágio foram mais suscetíveis do que os ovos. Em geral, todas as fases de desenvolvimento foram afetadas pelo óleo essencial dessa planta, o que causou a mortalidade de ovos, larvas, pupas e adultos de 80, 90, 90 e 100%, respectivamente.

No presente estudo observou-se uma maior eficácia de *S. molle* sobre *C. felis felis* adultos do que em formas imaturas. Em nítido contraste, ambos os óleos essenciais foram 100% eficazes contra pulgas adultas.

Baldin et al. (2008) observou elevada atividade de um pó feito de *Ruta graveolens* na inibição do desenvolvimento de ovo a adulto do gorgulho do feijão mexicano (*Zabrotes subfasciatus*). Baldin et al. (2009) verificaram aumento no período de desenvolvimento de ovo a adulto de *Acanthoscelides obtectus*, outra espécie de gorgulho que ataca feijão, quando os grãos foram tratados com pó feito de *Arnica montana*. Raja e John William (2008) investigaram os óleos voláteis de *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus citriodora*, *C. flexuosus*, *zizanioides Vetiveria* e *C. Martini*, onde pode ser observada atividade ovicida sobre o caruncho do feijão (*Callosobruchus maculatus*), reduzindo a emergência de adultos em até a 88%. Souza e Trovão (2009) estudando extratos secos de *Cnidioscolus quercifolius* observou atividade ovicida e larvicida contra o gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*).

Carneiro et al. (2011) investigaram a ação de um extrato de *Annona coriácea* em ovos e ninfas recém-nascidas do inseto *Rhodnius neglectus*, usando dois métodos de aplicação, tópica e contato. Eles avaliaram as concentrações de 25, 50, 100 425 e 200 mg/mL. O extrato foi capaz de inibir a eclosão dos ovos até 90% quando aplicado topicamente, enquanto que no método de contato com papel impregnado, a mortalidade foi de até 96,6% de ninfas na concentração mais elevada. O método de aplicação tópica foi eficiente na inibição da eclosão do ovo eclosão e o método de contato foi suficiente para inibir o desenvolvimento de ninfas recentemente eclodidas. O método de contato foi semelhante ao utilizado no presente estudo, onde 10 ovos em cada repetição foram colocados em contato com um papel de filtro impregnado. No entanto, as formas imaturas se desenvolveram dentro do intervalo esperado, e adultos surgiram 30 dias após a exposição dos ovos ao óleo, para ambos óleos OEFO e OEFr.

A escolha de piriproxifen como controle positivo deve-se ao fato de tratar-se de um análogo do hormônio juvenil dos insetos, capaz de interromper o desenvolvimento embrionário de *C. felis felis*, agindo sobre o crescimento e desenvolvimento de seus estágios imaturos (GRAF, 1993). Ambos fipronil e piriproxifen, controles positivos usados neste estudo foram 100% eficazes em interromper o ciclo de ovo-adulto.

Batista et al. (2012) avaliaram em teste *in vitro*, a eficácia e o período residual de proteção de um produto comercial, para aplicação ambiental, composto por uma associação um regulador do crescimento de insetos, piriproxifen a 0,05%, e o piretroide ciflutrina a 0,04% na interrupção do desenvolvimento ovo-adulto de *C. felis felis*. Para o teste *in vitro*, um carpete foi tratado conforme a recomendação do fabricante e semanalmente tiras desse carpete eram colocadas em contato com ovos da pulga. Esses autores constataram uma eficácia média de 98,78% na interrupção do desenvolvimento ovo-adulto ao longo de 182 dias de estudo, com variação mínima de 89,47% e máxima de 100%. Esse resultado encontrado foi muito superior ao encontrado no presente estudo que numa primeira avaliação já não apresentou eficácia significativa. Embora seja um produto sintético, a comparação entre os resultados torna-se importante, pois o uso de produtos naturais é incentivado desde que os produtos finais sejam eficazes e seguros para sua utilização.

Deve-se salientar que o uso de inseticidas sintéticos tem causado altos níveis de resistência e grande impacto ambiental, o que justifica a necessidade de busca por novas formulações parasiticidas (TAYLOR et al., 2007). Em contrapartida, os baixos níveis de atividade residual devido à natureza volátil dos óleos essenciais podem não fornecer proteção em contínuos desafios ambientais por parasitas que possuem estágios de vida livre (CALLANDER; JAMES, 2012).

Embora os resultados do teste, com óleos essenciais de folhas e frutos *S. molle*, sobre formas imaturas não tenha sido promissor, novos estudos devem ser realizados, pois pela

avaliação química esses óleos essenciais apresentam constituintes com potencial para interferir no ciclo biológico do inseto. Ibrahim et al. (2001) em sua revisão bibliográfica verificou diferentes modos de ação de monoterpenos, incluindo interferência nas funções comportamentais e em processos fisiológicos/bioquímicos básicos de insetos, bem como a interrupção do crescimento e desenvolvimento ou reprodução.

Em estudo realizado por Gonzalez-Coloma et al. (2006) nenhum constituinte químico parecia ser o responsável pela bioatividade de *Lavandula luisieri*, da família Lamiaceae, sobre os insetos testados, sugerindo que um sinergismo entre os constituintes poderia estar sendo responsável pela atividade observada. No caso do presente estudo, pode-se futuramente verificar possíveis interações entre os óleos essenciais e reguladores de crescimento de artrópodes como foi realizado em estudo feito por Silva (2010) buscando atividade antimicrobiana de óleos essenciais.

5 CONCLUSÃO

A planta *S. molle* demonstrou ser eficaz, *in vitro*, no controle de formas adultas de *C. felis felis*, representando uma ferramenta complementar para o controle de pulgas.

Os dados obtidos mostram que o extrato não polar (hexânico) é mais ativo contra *C. felis felis*. Portanto, estudos de extratos polares provavelmente não iriam conduzir à descoberta de uma substância que poderia ser usada para tratar infestações de pulgas.

Pode-se também concluir que embora o teste com formas imaturas de *C. felis felis* não tenha produzido um resultado satisfatório, o óleo essencial de *S. molle* é uma importante fonte de constituintes químicos que podem ter utilização potencial no controle de ectoparasitas de importância em medicina veterinária e em saúde pública, pois apresentou boa atividade sobre formas adultas de *C. felis felis*.

Este é o primeiro estudo relatando os efeitos inseticidas *in vitro* de óleos essenciais e extratos obtidos de *S. molle*. Os resultados obtidos evidenciam a necessidade de novos estudos para avaliação da atividade inseticida dos mesmos. As substâncias identificadas como majoritárias devem ser testadas isoladamente e em sinergismo porque pelos resultados obtidos, são possíveis precursoras de novos fármacos para o controle alternativo de pulgas

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1987.

ABDEL-SATTAR, E.; ZAITOUN, A. A.; FARAG, M. A.; GAYED, S. H.; HARRAZ, F. M. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. **Natural Products Research**, v. 24, p. 226-235. 2010

ACOSTA-GUTIÉRREZ, R. Biodiversidad de Siphonaptera en México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 85, p. 345-352, 2014.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream, IL: Allured Publi, 1995.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Índice monográfico F43: Fipronil**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eba05f80474594f39c9fdc3fbc4c6735/f43.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 16 dez. 2015.

AKINNEYE, J. O.; ADEDIRE, C. O.; ARANNILEWA, S. T. Potential of *Cleistopholis patens* Elliot as a maize protectant against the stored product moth, *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera; Pyralidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 25, p. 2510-2515, 2006.

ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C. Agentes antinematódeos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 45, p. 543-547.

ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. São Paulo-SP: **Química Nova**. v. 30, n. 8, p. 1976-1985, 2007.

ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; MARTÍNEZ, M. A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. **Veterinary Journal**, v.182, n. 1, p. 7-20, 2009.

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2^a edição, Roca, São Paulo. 2002. 720p.

ÁVILA, J.C.; GOMEZ, S.A. **Efeito de inseticidas aplicados nas sementes e no sulco de semeadura, na presença do coró-da-soja, *Phyllophaga cuyabana***. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 28p. 2003. (Documentos/Embrapa Agropecuária Oeste).

AYRES, M.C.C.; ALMEIDA, M.A. Agentes Antinematódeos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.453-465.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. **BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Ong. Mamirauá. Belém, PA. 2007.

AZEVEDO, N. R. et al. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, p. 205-16, 2002.

BALDIN, E. L. L.; PEREIRA, J. M.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; CHRISTOVAM, R. S.; CAETANO, A. C. Efeitos de pós vegetais sobre "*Zabrotes subfasciatus*" Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado. **Boletim de Sanidad Vegetal de Plagas**, v.34, p.177-185, 2008.

BALDIN, E. L. L.; PRADO, J. P. M.; CHRISTOVAM, R. S.; DAL POGETTO, M. H. F. A. Uso de pós de origem vegetal no controle de *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijoeiro. **BioAssay**, v. 4, n. 2, 2009.

BANDONI, A. **Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica**. Argentina: Editorial de La Universidad Nacional de La Plata. 2000. 417p.

BARROSO, M. S. T.; VILLANUEVA, G.; LUCAS, A. M.; PEREZ, G. P.; VARGAS, R. M. F. Supercritical fluid extraction of volatile and non-volatile compounds from *Schinus molle* L. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, p.305-312, 2011

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications**. Second Edition, CRC Press, 2015, 1112p.

BATISTA, L. C. S. O.; COELHO, C. N. C.; SILVA, A. F.; CID, Y. P.; MAGALHÃES, V. S.; CHAVES, D. S. AL.; COUMENDOUROS, K. *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae): atividade *in vitro* frente a ectoparasitos de importância veterinária. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, supl.2, p. 119-125, 2013a.

BATISTA, L. C. S. O.; FLORENCIO, C. N.; CID, Y. P.; MAGALHÃES, V. S.; CHAVES, D. S. AL.; COUMENDOUROS, K. Bioprospecção de extratos de jaborandi contra *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, supl.2, p. 113-118, 2013b

BEARD, J. DDT and human health. **Science of the Total Environment**, v. 355, p. 78–89, 2006.

BEIRÃO, B. C. B.; ROSINELLI, A. S.; DA SILVA, L. C. S.; SANTOS, G. G. C.; RUTHES, L. D.; MOLENTO, M. B. Protocolos utilizados em consultórios, clínicas e hospitais veterinários para o controle de endo e ectoparasitas em pequenos animais em Curitiba. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 4, p. 221-227, 2009.

BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. **Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas** Campina Grande, 2007 61p. (Embrapa Algodão. Documentos, 178)

BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J. P.; CAZAUX, S.; BOUJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, 2010.

BENZI, V. S.; STEFANAZZI, N.; FERRERO, A. A. Biological activity of essential oils from leaves and fruits of pepper tree (*Schinus molle* L.) to control rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 69(2), p. 154-159, 2009.

BERNHARD, R. A.; SHIBAMOTO, T.; YAMAGUCHI, K.; WHITE, E. The volatile constituents of *Schinus molle* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 2.p. 46, 1983.

BICHO, C. L.; RIBEIRO, P. B. Chave Pictórica para as Principais Espécies de Siphonaptera de Importância Médica e Veterinária, no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.7, n.1, p.47-51, 1998.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, Treatment, and Control of Flea and Tick Infestations **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, p. 1173–1200, 2009.

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

BLOOMQUIST, J. R. **Insecticides: Chemistries and Characteristics**. 2009. Disponível em: <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm>>. Acesso em: 13 Mar 2015.

BOWMAN, D. D. **Georgis' Parasitology for veterinarians**. 8ª Edição. Elsevier Science (USA), 2003, 422p.

BOYCE, A. M. Historical aspects of insecticide development. In: METCALF, R. L.; MCKELVEY Jr., J.J. **The future for insecticides needs and prospects**. Proceedings of a Rockefeller Foundation Conference. New York: Wiley Interscience, 1974. p.469-488.

BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: Inseticidas, mecanismo de ação e resistência. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 16, n. 1, p.279-93, 2007.

BRANDÃO, L. P. Pulicidas empregados na medicina de pequenos animais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 107, 2004.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BREITSCHWERDT, E. B. Feline bartonellosis and cat scratch disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123(1–2), p.167–71, 2008.

- BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S.; COSTA-JUNIOR, E. F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1574-1582, 2014.
- BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>. Acesso em 2 out. 2015.
- CALLANDER, J. T.; JAMES, P. J. Insecticidal and repellent effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil against *Lucilia cuprina*. **Veterinary Parasitology**, v. 184, p. 271-278, 2012.
- CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 1231-1242, 2012.
- CARLOTTI, D.N.; JACOBS, D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v.11, p.83-98, 2000.
- CARNEIRO, A. P.; PEREIRA, M. J. B.; GALBIATI, C. Efeito biocida de Annonacoriacea Mart 1841 sobre ovos e ninfas do vetor *Rhodnius neglectus* Lent 1954. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 2, p. 131-136, 2011.
- CARVALHO, R. da S. **Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias**. Circular técnica 83 da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, dez. 2006.
- CARVALHO, M. G.; MELO, A. G. N.; ARAGÃO, C. F. S.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. L. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 158-169, 2013.
- CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, N. S. M. S. A. Q.; NETTO, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **Revista T&C Amazônia**, v. 5, n.11, p.26-32, 2007.
- CAVALCANTI, A. S.; ALVES, M. S.; SILVA, L. C. P.; PATROCÍNIO, D. S.; SANCHES, M. N. CHAVES, D. S. A, SOUZA, M. A. A. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 356-362, 2015.
- CAVALIERE, Maria J. et. al. Organophosphate myotoxicity. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 3, p. 267-272, 1996.
- CHANTRAINE, J. M.; LAURENT, D.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R.; VILASECA, A. Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. **Phytotherapy Research**. v. 12, p. 350-354, 1998.
- CHOPA, C. S.; ALZOGARAY, R.; FERRERO, A. Repellency assays with *Schinus molle* var. areira (L.) (Anacardiaceae) Essential oils against *Blattella germanica* L. (Blattodea: Blattellidae). **BioAssay**, v. 1, p. 1-3, 2006

- COLE, E. R. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2008.
- COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47-54, 1993
- COLOMBO, F. A.; ODORIZZI, R. M. F. N.; LAURENTI, M. D.; GALATI, E. A. G.; CANAVEZ, F.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. P. Detection of Leishmania (Leishmania) infantum RNA in fleas and ticks collected from naturally infected dogs. **Parasitology Research**, v. 109, n 2, p.267-274, 2011.
- CORBETT, J. R.; WRIGHT, K.; BAILLIE, A. C. **The biomedical mode of action of pesticides.** 2^a ed., Academic Press, London, 1984. 33 p
- CORREIA, T. R. **Atividade do Neonicotinoide Dinotefuran sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae).** Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2007.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.
- COSTA-LIMA, A. M. **Insetos do Brasil: Panorpatos - Suctórios (Pulgas) Neurópteros – Tricópteros.** 4o tomo. Escola Nacional de Agronomia, Série Didática n.5. Cap. 25. p. 17-71. 1943.
- CONNIFF, R. When it comes to the pesky flea, ignorance is bliss. **Smithsonian**, v. 24, n. 4, p. 76-85, 1995.
- COUTINHO, M. T. Z. **Investigação da capacidade vetorial de sifonápteros e ixodídeos na leishmaniose visceral canina.** 2003, 115 p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- COUTINHO, M. T. Z, LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? *Vet Parasitol* 2007; 147(3-4): 320-325.
- CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Bertrand, 1995, 600p.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental – Uma Revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 995, 1002, 2002
- DELAYTE, E. H.; OTSUKA, M.; LARSSON, C. E.; CASTRO, R. C. C. Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicidose canina generalizada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 31-38, 2006.

DEQUECH, S. T. B.; SAUSEN, C. D.; LIMA, C. G.; Egewarth, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Biotemas**, v. 2, n. 1, p. 41-46, 2008.

DEVECI, O.; SUKAN, A.; TUZUN, N.; KOCABAS, E. E. H. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 21, p. 2211-2216, 2010.

DROBATZ, K. J. Clinical approach to toxicities. **Veterinary Clinics North America: Small Animal Practice**, v. 24, n. 6, p. 1123-1138, 1994.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2 ed., 2002, 507 p.

DRYDEN M. W. Biology of fleas of dogs and cats. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 15, n. 1, p. 569-579, 1993.

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

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

DRYDEN, M. W.; DENENBERG, T. M.; BUNCH, S. Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. **Veterinary Parasitology**, v. 93, n. 1, p. 69-75, 2000.

EHLERT, P. A. D.; BLANK, A. F; ARRIGONI-BLANK, M. F; PAULA, J. W. A.; CAMPOS, D. A.; ALVIANO, C. S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 79-80, 2006.

EL HAYOUNI, A.; CHRAIEF, I.; ABEDRABBA, M.;BOUIX, M.; LEVEAU, J.Y.;HAMMAMI, M.; HAMDI, M. *Tunisian Salvia officinalis* L and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat . **International Journal Food Microbiology**, v. 125. p. 242-251, 2008.

EISEN, R. J; BORCHERT, J. N.; HOLMES, J. L. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and their potential role as vectors in a plague-endemic region of Uganda. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v. 78, n. 6, p. 949-56, 2008.

ELLIOTT, M.; FARNHAM, A. W.; JANES, N. F.; SODERLUND, D. M. Insecticidal activity of the pyrethrins and related compounds Part XI. Relative potencies of isomeric cyano-substituted 3-phenoxybenzyl esters. **Pesticide Science**, v. 9, n. 1, p. 112-116, 1978.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 3, p. 233-243, 2014.

FAGBEMI, B. O. Effect of *Ctenocephalides felis strongylus* infestation on the performance of West African dwarf sheep and goats. **Veterinary Quartely**, v. 4, n. 2, p. 92-5, 1982.

FALCÃO, W. F. A. Chave para separar as famílias Anacardiaceae, Burseraceae e Simarubaceae. **Rodriguesia Revista do Jardim Botânico**, v. 37, p. 203-217, 1966

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte 1, 392 p.

FERNANDES, J. I. **Eficácia do nim (*Azadirachta indica*) no controle de ectoparasitos dos animais domésticos**. 2009. 165 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2009.

FERNANDES, E. T.; FAVERO, S. Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most.1855 (Coleoptera:Curculionidae) em milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 1, p. 225-231, 2014.

FERREIRA, M. G. P. A.; FATTORI, K. R; SOUZA, F.; LIMA, V. M. F. Potential role for dog fleas in the cycle of *Leishmania* spp. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 150- 154, 2009

FERRERO, A. A.; WERDIN GONZALEZ, J. O.; SANCHEZ CHOPA, C. Biological activity of *Schinus molle* on Triatoma infestans. **Fitoterapia**, v. 77, p. 381-383, 2006.

FERRI, P. H., “Química de produtos naturais: métodos gerais” In: **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Editora Unesp, p. 29-35, 1995.

FLAMINI, G. Acaricides of natural origin, personal experiences and review of literature (1990-2001). **Studies in natural products chemistry**. Viena, v. 28, p. 381-451, 2003.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 2, n. 2, 2004.

FOURIE, J. J.; FOURIE, L. J.; HORAKA, I. G. Efficacy of orally administered powdered aloe juice (*Aloe ferox*) against ticks on cattle and ticks and fleas on dogs. **Journal of the South African Veterinary Association**. v. 76, n. 4, p. 193–196, 2005.

GALLO, D. **Manual de entomología agrícola**. São Paulo: Ceres, 1978. 531 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ. v. 10, 2002, 920 p.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GEHRKE, I. T. S. **Estudo fitoquímico e biológico das espécies *Schinus lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamous* (Anacardiaceae) do RS**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.

GENOVESE, A. G.; MCLEAN, M. K.; KHAN, S. A. Adverse reactions from essential oil-containing natural flea products exempted from Environmental Protection Agency regulations in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care** , v. 22, n. 4, p. 470–475, 2012.

GEORGE, D. R.; SPARAGANO, O. A. E.; PORT, G.; OKELLO, E.; SHIEL, R. S.; GUY, J. H. Toxicity of plant essential oils to different life stages of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, and non-target invertebrates. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 24, 9–15, 2010.

GOMES, V.; AGOSTINI, G.; AGOSTINI, F.; ATTI DOS SANTOS, A.C.; ROSSATO, M. Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L.(Anacardiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 48, p. 222–227, 2013.

GONÇALVES, T. S. Caracterização fitogeográfica de grupos botânicos da Floresta Estacional Decidual da Serra do Cipó. **Revista Geográfica Acadêmica**, v. 8, n. 2, p. 33-46, 2014.

GONZALEZ-COLOMA, A.; MARTIN-BENITO, D.; MOHAMED, N.; GARCIA-VALLEJO, M. C.; SORIA, A. C. Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 609–616, 2006

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

GRAF, J. F. R.; GOGOLEWSKI, N.; LEACH-BING, G. A.; SABATINI, M. B.; MOLENTO, E. L.; BORDIN, ARANTES, G. J. Tick control an industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 427-442, 2004.

GRENIER, S.; GRENIER, A. M. Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. **Annals of Applied Biology**, v. 122, p. 369–403, 1993.

GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M., NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminthes of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, v.64, p.47-64, 1996.

GUEDES, R.N.C. **Toxicologia dos inseticidas**. Viçosa, MG: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1999.

GUIMARÃES, M.C. Frugivoria por aves em *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) na zona urbana do município de Araruama, Estado do Rio de Janeiro, sudeste brasileiro. **Atualidades Ornitológicas**, v. 116, p. 12-22. 2003.

GUIMARÃES, S. S.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L.; WOLF, J.; PEGORINI, C. S.; OLIVEIRA, T. M. Ação repelente, inseticida e fagoinibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.81, n. 4, p. 322-328, 2014.

HE, K.; ZENG, L.; SHI, G.; ZHAO, G. X.; KOZLOWSKI, J. F.; MCLAUGHLIN, J. L. Bioactive Compounds from *Taiwania cryptomerioides*. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 38-40, 1997.

HERNÁNDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado Plagas**, p.14-22, 1996.

HII, S. F.; LAWRENCE, A. L.; CUTTELL, L.; TYNAS, R.; PUTERI AZAZIAH MEGAT ABD RANI, P. A. M. A.; ŠLAPETA, J.; TRAUB, R. J. Evidence for a specific host-endosymbiont relationship between '*Rickettsia* sp. genotype RF2125' and *Ctenocephalides felis orientis* infesting dogs in India. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 169, p. 1-9, 2015.

HINK, W. F.; FEE, B. J. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, to all life stages of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 23, n. 4, p. 400-404, 1986.

HORAK, I. G. J.; BEAUCOURNU, C.; BRAACK, L. E. O. Parasites of domestic and wild animals in South Africa. XLIV. Fleas (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) collected from 15 carnivore species. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 71, p. 9-14, 2004

HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep. Noctuidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 715-720, 2001.

IBRAHIM, M.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi oils. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**, v. 42. p. 289-296, 2004.

IBRAHIM, M. A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K.; HOLOPAINEN, J. K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science**, v. 10, p. 243-259, 2001.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Review**, v. 10, p. 197-204, 2011.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.). **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. p.110-119.

KAMRANI, A.; PARREIRA, V. R.; GREENWOOD, J. The prevalence of Bartonella, hemoplasma, and Rickettsia felis infections in domestic cats and in cat fleas in Ontario. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 5, p. 411-9, 2008.

KASHIWAKI, M. M.; GUERREIRO, J. C. Inseticidas antagonistas do gaba: potencialidades e riscos para o manejo integrado de pragas. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 4, n. especial, p. 186-200, 2015.

KRÄMER, F.; MENCKE, N. **Flea biology and control**. Berlin: Springer- Verlag; 2001.

LAHLOU, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 6, p. 435-48, 2004.

LANS, C.; TURNER, N.; KHAN, T. Medicinal plant treatments for fleas and ear problems of cats and dogs in British Columbia, Canada. **Parasitology Research**, v. 103, p. 889-898, 2008.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3 ed. EDitira Manole, São Paulo, 1997.

LEWIS, R. E. Resumé of Siphonaptera (Insecta) of the world. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 377-389, 1998.

LIMA, H.R.P., KAPLAN, M.A.C., CRUZ, A.V.D.M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenoides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 71–77, 2003.

LIMONGI, J. E.; SILVA, J. J.; PAULA, M. B. C; MENDES, J. Aspectos epidemiológicos das infestações por sifonápteros na área urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais, 2007-2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 22, n. 2, p. 285 – 294, 2013

LINARDI, P. M. Biologia e epidemiologia das pulgas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 103-106, 2004.

LINARDI, P. M.; DE MARIA, M.; BOTELHO, J. R. Effects of larval nutrition on the postembryonic development of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 34, n.4, p. 494-497, 1997.

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

LINARDI, P. M.; SANTOS, J. L. C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 345-354, 2012.

LIU, Z. L.; CHU, S. S.; LIU, Q. R. Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* of the essential oils of *Artemisia capillaris* and *Artemisia mongolica*. **Molecules**, v.15, n.4, p. 2600-2608, 2010

LIU, C. H.; MISHRA, A. K.; TAN, R.X.; TANG, C.; YANG, H.; SHEN, Y. F. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. **Bioresourche Technology**, v. 97, p. 1969–1973, 2006.

- LJALEM, H. A.; UNNITHAN, C. R. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Schinus molle*. **Unique Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 9-12, 2014.
- LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. **Biossíntese de produtos naturais**. Lisboa: IST Press, 272, 2007.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. São Paulo: Editora Plantarum, 2008, p. 61-64.
- LUO, X.; MA, Y.; WU, S.; WU, D. Two novel azadirachtin derivatives from *Azadirachta indica*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 1022-1024, 1999.
- LUZ, C. L. S. Anacardiaceae R. Br. na flora fanerogâmica do estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- LYONS, G. Mixed messages: pesticides that confuse hormones. **Pesticide Science**, v. 23, p. 4-6, 2000.
- MACDONALD, J. M. Flea control: An overview of treatment concepts for North America. **Veterinary Dermatology**, v. 6, p. 121-130, 1995.
- MACHADO, L. A.; BARBOZA E SILVA, V.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, n. 2, p. 103-106, 2007.
- MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, n. 2, p. 103-106, 2007.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, C. A.; VEIGA JR, F. V.; GRYNBERG, F. N.; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MACORIS, M. L. G.; ANGRIGHETTI, M. T. M.; GLASSER, C. M.; GARBELOTI, V. C.; CIRINO, V. C. B. Alteração de resposta de suscetibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 521-522, 1999.
- MAFFEI, M.; CHIALVA, F. Essential oil from *Schinus molle* L berries and leaves. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 5. p. 49-52, 1990.
- MARCHIONDO, A. A.; HOLDSWORTH, P. A.; GREEN, P.; BLAGBURN, B. L.; JACOBS, D. E. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 1, p. 332-344, 2007.
- MARONGIU, B. P. A.; CASU, R.; PIERUCCI, P. Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, p. 554-558, 2004.

MARTINS, M. R.; ARANTES, S.; CANDEIAS, F.; TINOCO, M. T.; CRUZ-MORAIS, J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, p. 485-492, 2014.

MARTINS, J. F. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S.; GIOLO, F. P. Inseticida regulador de crescimento no controle do gorgulho-aquático-do-arroz *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v. 14, n. 3-4, p. 87-95, 2008.

MASATERU, O.; YAMASHITA, M.; MORI, K.; MASUOKA, C.; ETO, M.; KINJO, J.; IKEDA, T.; YOSHIMITSU, H.; NOHARA, T. Sesquiterpenoids, Triterpenoids, and Flavonoids from the Fruits of *Schinus molle*. **Food Science and Technology Research**, v. 14, n. 5, p. 499-508, 2008.

MEALEY, K. L. Ivermectin: macrolide antiparasitic agents. In: PETERSON, M. **Small animal toxicology**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2006. cap. 51, p. 785-794.

MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.

MEDLEAU, L; HNILICA, K.A. **Dermatologia De Pequenos Animais**. Editora Roca, p. 78-80/113-115, 2003.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.14, p.71-81, 2002.

MELO, I. S; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**, volume I. Ed. EMBRAPA, 1998, 262p.

MELO, D. R. **Ação de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *C. felis felis* (Bouche, 1806) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2006. 38 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2006.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas Botânicos: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação e Uso Agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p.

MEOLA, R. W.; READY, S.; MEOLA, S. M. **Physiological effects of the juvenoid pyriproxyfen on adults, eggs, and larvae of the cat flea**, p. 221-228. In K. B. Wildey and W. H. Robinson [eds.], Proceedings of the 1st International Conference on Insect Pests in the Urban Environment. BPC Wheatons, Exeter, UK, 1993.

MESSER, Adam.; MCCORMICK, Kevin; SUNJAYA; HAGEDORN, H. H.; TUMBEL, Ferny; MEINWALD, J. Defensive role of tropical tree resins: antitermitic sesquiterpenes from Southeast Asian Dipterocarpaceae. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 12, p. 3333-3352, 1990.

MILLER, R. J.; DRYDEN, M. W.; BROCE, A. B.; SUITER, D. R. Pupation Site Selection of Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Various Carpet Types and Its Influence on Insecticide Efficacy. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 4, p. 1391-1397, 2000.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. **Biodiversidade Brasileira**. Disponível em <http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/biodivbr.pdf> Acesso em 05 jan/2016, 2002.

MORADOR, R. S. **Intoxicação por lactonas macrocíclicas em cães e gatos**. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; RIGITANO, R. L. O. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura do tomateiro a *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.3, p.203-210, mar. 2005.

MURRAY, A. P.; FRONTERA, M. A.; TOMAS, M. A.; MULET, M. C. Gas Chromatography-Mass Spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg., *Schinus fasciculata* (Griseb.) I. M. Johnst., and *Schinus areira* L. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 60, p. 25-29, 2005.

NA, M.; KIM, B. Y.; OSADA, H.; AHN, J. S. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by lupeol and lupenone isolated from *Sorbus commixta*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 1056-1059, 2009.

NADIA, T. L.; MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Polinização de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) e análise da partilha de polinizadores com *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), espécies frutíferas e endêmicas da caatinga. **Revista Brasileira de Botânica**, v.30, n.1, p.89-100, jan.-mar. 2007

NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; IKEDA, T.; SALGADO, V. L.; YEH, J. Z. Glutamate-activated chloride channels: Unique fipronil targets present in insects but not in mammals. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 97, n. 2, p. 149-152, 2010.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SALGADO, V.L.; KAUSSMANN, M. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.76, n. 2, p. 55-69, 2003.

NAUEN, R. BRETSCHEIDER, T. New modes of action of insecticides. **Pesticide Outlook**, v. 12, p. 241-245, 2002

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.

NICOLINI, J. V.; PUGET, F. P.; MAZZA, M. G. G. Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. In: **VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2009.

NODEN, B. H.; RADULOVIC, S.; HIGGINS, J. A.; AZAD, A. F. Molecular identification of *Rickettsia typhi* and *R. felis* in co-infected *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 410-414, 1998.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003, p. 59.

OLIVEIRA, P. R. **Avaliação dos efeitos do fipronil (ingrediente ativo do frontline®) nos ovários de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e no sangue periférico de roedores**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, A. R. M. F.; JEZLER, C. N.; OLIVEIRA, R. A.; MIELKE, M. S.; COSTA, L. C. B. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Horticultura Brasileira** v. 30, p. 155-159, 2012.

OPAS/OMS. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília: [s. n.], 1996.

OTRANTO, D.; WALL, R. New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 22, n. 1, p. 291-302, 2008.

OZÇELIK, B.; ASLAN, M.; ORHAN, I.; KARAOGLU, T. Antibacterial, antifungal and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. **Microbiology research**, v. 160, p. 159 – 164, 2005

PEREIRA, M. C.; SANTOS, A. P. *Ctenocephalides felis felis*: biologia, ecologia e controle integrado – Parte 1 (Biologia ecologia). São Paulo. **Clínica Veterinária**, n.16, p.34 - 38, 1998.

PEREIRA, M. R.; SILVA, G. A. G.; MACIEL, A. S.; GALHARDO, J. A.; CAMPOS, A. K. *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) em caprinos e ovinos no município de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p.607-609, out./dez., 2012.

PHILLIPS, M. A.; LEON, P.; BORONAT, A.; BORONAT, A.; RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. The plastidial MEP pathway: unified nomenclature and resources. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 12, p. 619-23, 2008.

PLETSCH, M. Compostos Naturais Biologicamente Ativos: Aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 4, p. 12-15, 1998.

POLANCO-HERNÁNDEZ, G.; ESCALANTE-EROSA, F.; GARCÍA-SOSA, K.; ROSADO, M. E.; GUZMÁN-MARÍN, E.; ACOSTA-VIANA, K. Y.; GIMÉNEZ-TURBA, A.; SALAMANCA, E.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L.M. Synergistic effect of lupenone and caryophyllene oxide against *Trypanosoma cruzi*. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-6, 2013.

PRAÇA, L. B; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R. MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 11-16, 2004.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. 112f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Botucatu, São Paulo, 2012.

RAUH, J. J.; LUMMIS, S. C. R.; SATTELLE, D. B. Pharmacological and biochemical properties of insect GABA receptors. **Trends in Pharmacological Science**, v. 11, n. 1, 325-329, 1990

RITTER, L. Report of a panel on the relationship between public exposure to pesticides and cancer. **Cancer**, v. 80, n. 10, 2019-2033, 1997.

RODRIGUES, A. C. F. **Estudo de variações bioquímicas e morfológicas induzidas por pesticidas organofosforado e carbamato em tilápia (*Oerochromis niloticus*) e cascudo (*Pterygoplichthys anisitsi*), como biomarcadores de contaminação ambiental**. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, 2009.

RODRIGUES, V. G.; CARDOSO, M. G. C.; MORAES, J. C.; MACHADO, A. M. F.; LIMA, R. K.; ANDRADE, M. A.; GOMES, M. S. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *L. sobre L.*, 1785 (Coleoptera: Tenebrionidae) *Schinus molle* *Tenebrio molitor*. **Magistra**, v. 23, n. 4, p. 161-167, 2011.

RODRIGUEZ, R. H.; PINTO, A. C. Constituintes Químicos e Propriedades Biológicas de Espécies do Gênero *Serjania*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1583-1606, 2014.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, p. 43-50, 2001.

ROSSINI, C.; MENENDEZ, P.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Essential oils from leaves of *Schinus molle* and *S. lentiscifolius* of Uruguayan origin. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 1, p. 71-73, 1996.

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

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

SAITO, M. L. **As plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura.** Embrapa meio ambiente, p. 1-4, 2004.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente.** EMBRAPA-CNPMA, Série documentos, 1998, 46p.

SANTOS, H. D. Período de desenvolvimento dos estágios imaturos de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 87-91, 2008.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretroides – Uma Visão Geral. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; FERNANDES, C. F.; SILVA, A. G.; LIMA, D. K. S.; TEIXEIRA, C. A. D.; FACUNDO, V. A. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus*. **Revista Fitos**, v.3, n.1, p.77-84, 2007.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; SILVA, A. G.; LIMA, D. K. S.; SALLET, L. A. P.; TEIXEIRA, C. A. D.; FACUNDO, V. A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, supl.I, p.757-762, 2013

SANTOS, M. C.; OLIVEIRA-JUNIOR, L. F. G.; OLIVEIRA, L. F. M.; CARVALHO, C. R. D.; GAGLIARDI, R. P. Perfil volátil e potencial fungitóxico do hidrolato e extrato de sementes e folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista de Ciências e Agronomia**, v. 45, n. 2, p. 284-289, 2014.

SCARPELINI, J. R.; ANDRADE, D. J. Avaliação do efeito de inseticidas sobre a joaninha *Hippodamia convergens* guérin-meneville (Coleoptera: Coccinellidae) em algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 77, n. 2, p. 323-330, 2010.

SCHENKER, R.; HUMBERT-DROZ, E.; MOYSES, E. W.; YERLY, B. Efficacy of nitenpyram against a flea strain with resistance to fipronil. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 23, p. 16–19, 2001.

SCOTT, J. A. **The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress.** Florida Entomologist, v. 78, p. 399–414, 1995.

SCOTT, F. B.; MARTINS, I. V. F.; SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R. Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 13-18, 2002.

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

SIDDALL, J. B. Insect Growth Regulators and Insect Control: A Critical Appraisal. **Environmental Health Perspectives**, v. 14, n. 1, p. 119-126, 1976.

SILVA, J. J. O.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, abr. 2001.

SILVA, L. V. CONSTANCIO, S. C. M.; MENDES, M. F.; COELHO, G. L. V. Extração do óleo essencial da pimenta rosa (*Schinus molle*) usando hidrodestilação e soxhlet In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2005.

SILVA, C. G.; HERDEIRO, R. S.; MATHIAS, C. J.; PANEK, A. D.; SILVEIRA, C. S.; RODRIGUES, V. P.; RENNO, M. N.; FALCAO, D. Q.; CERQUEIRA, D. M.; MINTO, A. B.; NOGUEIRA, F. L.; QUARESMA, C. H.; SILVA, J. F.; MENEZES, F. S.; ELEUTHERIO, E. C. A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 229-233, 2005.

SILVA, D. A.; IMAMURA, P. M.; ROMERO, A. L. Atividade inseticida de óleos-resina de copaíba sobre adultos de *Ulomoides (=palembus) dermestoides* In: **VII Encontro de Produção Científica e Tecnológica**, 2012.

SILVA-SANTOS, A.; BIZZO, H. R.; ANTUNES, A. M. S.; D'ÁVILA, I. A. A participação da indústria óleo-citrícola na balança comercial brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 8-13, 2006.

SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended longevity of the pre-emerged adult cat flea (*Siphonaptera: Pulicidae*) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. **Annals of Entomological Society of America**, v. 78, n. 1, p. 763-768, 1985.

SIMÕES, C. M. O. **Plantas medicinais populares no Rio Grande do Sul**. 3 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 467-495.

SLOSS, M. W; ZAJAC, A. M; KEMP, R. L. **Parasitologia Clínica Veterinária**. Editora Manole. 6ª edição. p. 134-135, 1999.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

SOUZA, A. P.; MARQUES, M. R.; MAHMOUD, T. S.; CAPUTO, B. A.; CANHETE, G. M.; LEITE, C. B.; LIMA, D. P. Bioprospecção de substâncias inseticidas de plantas nativas de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 22, n. 4, p. 1136-1140, 2008

SPINOSA, H. S.; XAVIER, F. G.; MARUO, V. M. Toxicologia dos medicamentos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; NETO, J. P. (Ed.). **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. Barueri: Manole, 2008. cap. 6, p. 117-189.

SU, L. C.; HUANG, C. G.; CHANG, S. T.; YANG, S. H.; HSU, S. H.; WU, W. J.; HUANG, R. N. An improved bioassay facilitates the screening of repellents against cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Pest Management Science**, v. 70, p. 264-270, 2014.

SUZIMONE, D. J. C; JUCENI, P. D.; JORGE, M. D, Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

TANCREDI, M. G. F.; CORREIA, T. R. C.; RIBEIRO, T. R.; BOTELHO, M. C. S. N.; TAVARES, P. V.; SCOTT, F. B.; VEROCAI, G. G.; COUMENDOUROS, K. Eficácia comparativa de duas formulações de uso tópico contendo fipronil 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* em gatos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 74-77, 2009.

TAUIL, P.; DEANE, L.; SABROZA, P.; RIBEIRO, C. A malária no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública [online]**, v. 1, n. 1, p. 71-111, 1985.

TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 253 – 268, 2001.

TINGLE, C.C.D.; ROTHER, J.A.; DEWHURST, C.F.; LAUER, S.; KING, W.J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 176, n. 1, p. 1-66, 2003.

UHRY, K. F. **Aspectos do controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (bals.) vuill.** Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2007.

UQUHART, G.M; ARMOUR, J; DUNCAN, J.L; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. Editora Guanabara koogan, 2 ed, p.154-155, 1998.

VALADARES-INGLIS, M.C.C.; SHILER, W.; SOUZA, M.T. de. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. v.1, p.201-230.

VALENTINE, W. M. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. **Veterinary Clinics North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p. 375-381, 1990.

VALMORBIDA, J.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M.; FERRI, A. F. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha x piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 56-61, 2006.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VASCONCELOS, G.J.N.; GODIN JUNIOR, M.G.C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemíptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1353-1359, 2006

VIEGAS, D. M. **Variação mensal da população de *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) em cães de um bairro periférico de Belo Horizonte, MG.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1996

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, V. P. C. **Atividade do Fluzaron Administrado por Via Oral no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães.** 2012. 70f. Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2012.

WAKITA, T.; YASUI, N.; YAMADA, E.; KISHI, D. Development of a novel insecticide, dinotefuran. **Journal of Pesticide Science**, v. 30, n. 2, p. 122-123, 2005.

WALIWIYIYA, R.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, transanethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, v. 65, n. 1, p. 241–248, 2009.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. **An Introduction to Insecticides**, (4th edition). 2009. Disponível em <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>> Acesso em 13/03/2015.

WARREN, S. Flea Busters: Principles of Flea Control. **Modern Veterinary Practice**, v. 67, n. 1, p. 732-734, 1986.

WOOLF, A. Essential oil poisoning. **Clinical Toxicology**, v. 37, n. 6, p. 721–727, 1999.

YATAGAI, M.; MAKIHARA, H.; OBA, K. Volatile components of Japanese cedar cultivars as repellents related to resistance to *Cryptomeria* bark borer. **Journal of Wood Science**, v. 48, p. 51-55, 2002.

ZAHED, N.; HOSNI, K.; BRAHIM, N. B.; KALLEL, M.; SEBEI, H. Allelopathic effect of *Schinus molle* essential oils on wheat germination. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.32, p.1221-1227, 2010.

ZAKSON-AIKEN, M.; GREGORY, L.; MEINKE, P.T.; SHOOP, W. Systemic activity of the avermectins against the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 576-580, 2000.

ZALUSKI, R. **Efeito do inseticida fipronil em abelhas africanizadas e na expressão de gene relacionado ao sistema imunológico.** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2014.

8 ANEXOS

8.1 Produção científica entre março de 2013 e fevereiro de 2016

8.2. Artigo sobre a tese publicado em janeiro de 2016