

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Luana Carvalho Saraiva

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Pelargonium graveolens* EM *Musca domestica* E *Lucilia
cuprina***

Santa Maria, RS

2018

Luana Carvalho Saraiva

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pelargonium graveolens* EM *Musca domestica* E *Lucilia cuprina*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia – Área de Concentração em Farmacologia Aplicada à Produção Animal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Farmacologia.**

Orientador: Prof. Dr^a. Silvia Gonzalez Monteiro

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Christ Vianna Santos

Santa Maria, RS

2018

Saraiva, Luana Carvalho
ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Pelargonium graveolens EM Musca domestica E Lucilia
cuprina / Luana Carvalho Saraiva.- 2018.
45 p.; 30 cm

Orientadora: Silvia Gonzalez Monteiro
Coorientador: Roberto Christ Vianna Santos
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Farmacologia, RS, 2018

1. fitoterapia 2. moscas 3. gerânio 4. monoterpenos I.
González Monteiro, Silvia II. Christ Vianna Santos,
Roberto III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

©2018

Todos os direitos reservados a Luana Carvalho Saraiva. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: biomed.luana@hotmail.com

Luana Carvalho Saraiva

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pelargonium graveolens* EM *Musca domestica* E *Lucilia cuprina*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Farmacologia Aplicada à Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Farmacologia**.

Aprovado em 02 de março de 2018:

Silvia Gonzalez Monteiro, Dr^a. (UFSM)

(Presidente/Orientador)

Sydney Hartz Alves, Dr. (UFSM)

Luciana Dalla Rosa, Dr^a (UNICRUZ)

Santa Maria, RS

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me permitido realizar meus sonhos e vencer todos os obstáculos;

Aos meus pais, por todo apoio, amor e carinho, sem eles eu nada seria;

Ao meu namorado Felipe por toda paciência, apoio, amor, carinho e companheirismo até nos momentos mais difíceis;

Às minhas amigas de fé, Jéssica Couto e Camille Kirinus, que sempre estiveram comigo me apoiando;

À minha colega e amiga Luciana Cossetin por ter me ajudado e me apoiado do início ao fim deste trabalho, obrigada por tudo;

Ao meu colega Igor Magalhães por ter me auxiliado nos experimentos e nas estatísticas;

Aos professores Silvia Gonzalez Monteiro e Daniel Stainki que me acolheram e me proporcionaram a oportunidade de fazer parte dessa grande equipe Lapavet;

Ao Professor Roberto pela Co-orientação;

A toda equipe do Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPAVET) pela parceria durante todo o período deste trabalho.

“Nenhum obstáculo é grande demais quando acreditamos em Deus”.

Aristóteles

RESUMO

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pelargonium graveolens* EM *Musca domestica* E *Lucilia cuprina*

AUTOR: LUANA CARVALHO SARAIVA

ORIENTADORA: SILVIA GONZALEZ MONTEIRO

A utilização dos óleos essenciais com atividade inseticida tem sido amplamente estudada, proporcionando uma nova alternativa de tratamento, uma vez que os inseticidas sintéticos convencionais, devido ao seu potencial tóxico e uso indiscriminado têm provocado um aumento de espécies resistentes, causando significativos danos à saúde do homem e dos animais. Neste contexto, o uso de óleos essenciais pode contribuir significativamente para o controle de insetos. Este trabalho teve o objetivo de investigar a atividade inseticida do óleo essencial de *Pelargonium graveolens* frente a duas espécies de moscas. Para isso, foram realizados ensaios larvicidas, utilizando quatro concentrações do óleo (2,5%, 5%, 10% e 20%), um controle negativo com tween-80 e um controle positivo contendo diazinon. Os ensaios adulticidas foram realizados utilizando as técnicas de exposição ao papel impregnado e aplicação tópica, ambos, com concentrações de 1%, 2,5%, 5% e 10%, acetona e Diazinon como controles negativo e positivo, respectivamente. Também foi realizado o teste de repelência com concentração de 1% do óleo essencial, tween-80 1% como controle negativo e Diazinon 1% como controle positivo. Todos os testes foram realizados em triplicata. O óleo essencial de *P. graveolens* não apresentou potencial larvicida sobre as duas espécies de insetos. No teste adulticida do papel impregnado foi observado mortalidade de 100% aos 120 minutos em *M. domestica* e em *L. cuprina* a concentração 1% foi eficaz aos 60 minutos matando 100% das moscas. Em 120 minutos de teste de aplicação superficial o óleo essencial na concentração 5% apresentou mortalidade de 100% para *M. domestica* e para *L. cuprina*, o óleo essencial 5% e 10% apresentaram mortalidades de 96% e 100% em 45 minutos, respectivamente. O óleo essencial de *P. graveolens* (1%) apresentou efeito repelente. Diante disso, o óleo de *P. graveolens* pode ser utilizado como uma forma de controle natural de *M. domestica* e *L. cuprina*, reduzindo o uso de inseticidas químicos comumente utilizados para o controle desses dípteros.

Palavras-chave: fitoterapia, moscas, gerânio, monoterpenos

ABSTRACT

THE INSECTICIDE AND REPELLENT ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Pelargonium graveolens* IN *Musca domestica* AND *Lucilia cuprina*

AUTHOR: LUANA CARVALHO SARAIVA

ADVISOR: SILVIA GONZALEZ MONTEIRO

The use of essential oils with insecticidal activity has been widely studied, providing a new treatment alternative, since conventional synthetic insecticides, due to their toxic potential and indiscriminate use have caused an increase of resistant species, causing significant damages to human and animals health. In this context, the use of essential oils can contribute significantly to the control of insects. The objective of this work was to investigate the insecticidal activity of the essential oil of *Pelargonium graveolens* against two species of flies. For this, larvicidal tests were performed, using four concentrations of oil (2.5%, 5%, 10% and 20%), a negative control with Tween-80 and a positive control containing Diazinon. The adulticidal tests were performed using impregnated paper and topical application techniques, both with concentrations of 1%, 2.5%, 5% and 10%, acetone and Diazinon as negative and positive controls, respectively. The repellency test was also performed with the difference of 1% of the essential movement, 1% Tween-80 as a positive control and 1% Diazinon as positive control. All tests were performed in triplicate. The essential oil of *P. graveolens* did not present larvicidal potential on the two species of insects. In the adulticidal test of the impregnated paper, a 100% mortality at 120 minutes was observed in *M. domestica* and in *L. cuprina* the 1% concentration was effective at 60 minutes, killing 100% of the flies. In 120 minutes of superficial application test the essential oil in the 5% concentration presented 100% mortality for *M. domestica* and for *L. cuprina*, the essential oil 5% and 10% presented mortalities of 96% and 100% in 45 minutes, respectively. The essential oil of *P. graveolens* (1%) presented a repellent effect. Thus, *P. graveolens* oil can be used as a form of natural control of *M. domestica* and *L. cuprina*, reducing the use of chemical insecticides commonly used to control these dipterous.

Keywords: phytotherapy, flies, geranium, monoterpenes.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1- <i>Musca domestica</i> L.	16
Figura 2- <i>Lucilia cuprina</i> W.	17

MANUSCRITO

Figure 1- Apparatus to test essential oil repellency against flies.....	27
Figure 2- Adulticidal activity of <i>P. graveolens</i> essential oil in <i>M. domestica</i> by the impregnated paper method at different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%).....	30
Figure 3- Adulticidal activity of <i>P. graveolens</i> essential oil in <i>L. cuprina</i> by the impregnated paper method at different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%).....	31
Figure 4- Adulticidal activity of the essential oil of <i>P. graveolens</i> in <i>M. domestica</i> by the surface application method in different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%).....	32
Figure 5- Adulticidal activity of the essential oil of <i>P. graveolens</i> in <i>L. cuprina</i> by the surface application method in different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%).....	32
Figure 6- Repellency of <i>P. graveolens</i> 1% oil against <i>M. domestica</i>	34
Figure 7- Repellency of <i>P. graveolens</i> 1% oil against <i>L. cuprina</i>	34

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO

Table 1 - Effects of <i>P. graveolens</i> essential oil on larvae, pupae and adult emergence after immersion of larvae of third stage of <i>M. domestica</i>	29
Table 2 - Effects of <i>P. graveolens</i> essential oil on larvae, pupae and adult emergence after immersion of larvae of third stage of <i>L. cuprina</i>	29
Table 3 - Comparison between surface application and impregnated paper methods of <i>P. graveolens</i> essential oil (LC ₅₀) against <i>M. domestica</i> and <i>L. cuprina</i> during 15 minutes.	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DEET	N,N-Diethyl-meta-toluamide
DZN	Diazinon
EO	Essential Oil
FEMA	Flavor and Extract Manufactures Association
GC-FID	Gas Chromatography with Flame Ionization Detector
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
OG	Óleo de Gerânio
R.H	Relative Humidity

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 MOSCAS DE IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA	15
2.1.1 <i>Musca domestica</i> (Linnaeus, 1758).....	15
2.1.2 <i>Lucilia cuprina</i> (Wiedemann, 1830).....	17
2.2 INSETICIDAS QUÍMICOS.....	19
2.2.1 Uso do organofosforado Diazinon	19
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	20
2.3.1 <i>Pelargonium graveolens</i>	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 MANUSCRITO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

APRESENTAÇÃO

Os resultados e a discussão que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo que será submetido para publicação na revista *Parasitology Research*, o qual se encontra no item MANUSCRITO. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas, encontram-se no próprio artigo e representam a íntegra deste estudo. As REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS se referem somente as citações que aparecem nos itens INTRODUÇÃO e REVISÃO BIBLIOGRÁFICA desta dissertação.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o controle de muitas espécies de moscas tem sido realizado através do uso de inseticidas sintéticos, porém o grande problema é que estes produtos são tóxicos para organismos biológicos não-alvos e contaminam o meio ambiente. Devido a isso, há um crescente interesse em alternativas de controle desses insetos a partir de produtos naturais e biodegradáveis que não agridam o ambiente, a saúde humana e animal, além de solucionar a resistência que o uso errôneo desses agentes químicos têm causado nos artrópodes (REGNAULT-ROGER et al., 2012).

As espécies *Musca domestica* (Muscidae) e *Lucilia cuprina* (Calliphoridae) são consideradas como importantes contribuintes para a disseminação de diversas doenças infecciosas transmitidas por alimentos, como por exemplo, cólera, shigelose e salmonelose. A transmissão de patógenos a partir desses insetos pode acontecer, inicialmente, pela conservação desses agentes no canal alimentar e/ou devido à contaminação nas partes externas no corpo do inseto durante a alimentação, defecação e/ou regurgitação (SASAKI et al., 2000).

No entanto, diante do relevante potencial dessas moscas de natureza sinantrópica em transmitir diversos agentes patogênicos, se faz necessário um controle eficaz desses insetos, principalmente, em localidades subdesenvolvidas onde há falta de educação em saúde e condições de higiene adequadas. Além da resistência desenvolvida pelos insetos pelos inseticidas químicos, outra preocupação é o uso excessivo que pode implicar na saúde e também no desequilíbrio ambiental (ISMAN et al., 2011; UMPIÉRREZ et al., 2011).

Os óleos essenciais têm sido amplamente estudados como agentes promissores para o controle de um grande número de insetos por apresentarem atividade inseticida diante de todas as fases evolutivas, também atuar como repelentes fumigantes e como reguladores no crescimento dos insetos. Essas propriedades têm sido relacionadas devido à presença de compostos químicos bioativos que representam os complexos mono e sesquiterpenos sendo os monoterpenos o grupo predominante com ação inseticida (REGNAULT-ROGER et al., 2012).

O óleo de *Pelargonium graveolens*, conhecido popularmente como gerânio é amplamente utilizado no tratamento de diabetes, diarreia, úlceras gástricas, esterilidade, cálculos urinários, além de apresentar atividades antibacteriana e inseticida (TABANCA et al., 2013), também é frequentemente utilizado na constituição de produtos aromáticos e na

produção de cosméticos. Sua atividade biológica está relacionada aos principais constituintes: citronelol, geraniol e linalol (BOUKHRIS et al., 2011).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MOSCAS DE IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA

As moscas das famílias, Sarcophagidae, Muscidae e Calliphoridae evoluíram para viver em estreita associação com o homem (moscas sinantrópicas) como pragas irritantes (OLSEN, 1998). As moscas vivem na sujeira, em excremento animal e humano, lixo, cama animal e também em matéria orgânica em decomposição. Os hábitos reprodutivos e alimentares de muitas espécies de moscas são semelhantes (GREENBERG, 1973). As moscas sinantrópicas são conhecidas como carreadoras de uma grande variedade de vírus, bactérias e protozoários de importância para a saúde pública (GREENBERG, 1973; OLSEN, 1998), sendo abundantes nas áreas urbanas e rurais onde prevalecem condições insalubres e são geralmente escassas quando as condições sanitárias são satisfatórias (GREENBERG, 1973). Estes insetos têm um papel ecológico essencial na natureza porque as larvas facilitam a reciclagem de nutrientes pela fragmentação e modificação bioquímica da matéria orgânica em decomposição, além de possibilitarem a melhoria do solo pela abertura de galerias quando enterram-se para pupação (ODUM, 1983). As moscas podem se tornar um problema quando sua população aumenta de forma demasiada, o que é mais frequente em regiões de clima quente, quando o seu desenvolvimento e a ovogênese são acelerados, possibilitando o sincronismo de numerosas gerações diferentes em uma mesma localidade. Densidades populacionais aumentadas facilitam a dispersão e a invasão de propriedades e domicílios pelas moscas, causando problemas econômicos e de Saúde Pública (PRADO, 2003).

2.1.1 *Musca domestica* (Linnaeus, 1758)

A *Musca domestica* L., conhecida popularmente como mosca comum ou mosca doméstica, é um díptero pertencente à família Muscidae, holometábolo com estádios morfológicamente distintos: ovo, larva, pupa e adulto (ROGER, 2002) que vive em estreita

proximidade com os seres humanos (FORSTER et al., 2007). A larva de *M. domestica* tem afinidade por resíduos orgânicos, tais como organismos podres, lixo, resíduos de animais e de alimentos. Ao contrário de muitas pragas que consomem resíduos, a *M. domestica* tem muitas vantagens, como: se adapta facilmente ao ambiente é resistente a microrganismos, possui ampla distribuição geográfica, prosperando em temperaturas que variam de 20°C a 35°C em áreas como Austrália, Pacífico, África, Américas e Ásia (NIU et al., 2016).

Figura 1. *Musca domestica* L.



Fonte: Arquivo do Laboratório de Parasitologia Veterinária

Este inseto tem grande capacidade reprodutiva, ou seja, cresce rápido e possui um ciclo de vida curto. Cada fêmea pode gerar 500 ovos durante toda a sua vida. O ciclo de vida é de aproximadamente 15 dias e geralmente podem sobreviver 7-8 gerações por ano e até mesmo 20 gerações em condições adequadas. A criação durante todo o ano pode ser conseguida através de circunstâncias de alimentação artificial (NIU et al., 2016).

A mosca doméstica também é encontrada em regiões agrícolas com predominância em áreas com pouca higiene e saneamento (JUNAID et al., 2014). As moscas servem como vetores e reservatórios para patógenos que transmitem doenças pelos alimentos (KHOBDEL et al., 2008), como a cólera, shigelose e salmonelose (BARIN et al., 2010). A transmissão de patógenos é mecânica, ou seja, os microrganismos podem permanecer vários dias na mosca, contaminando as partes externas do corpo, como os tarsos enquanto se alimenta, durante a defecação e a regurgitação, assim transferindo-os para os alimentos expostos, superfícies de preparação e recipientes onde os mesmos são mantidos (PHOKU et al., 2016 e TILAK et al., 2010). Embora os inseticidas possam efetivamente reduzir as populações de *M. domestica*, os efeitos secundários graves destes produtos químicos podem resultar em resíduos nos

alimentos e no ambiente, que podem ser nocivos para os seres humanos e animais (SIRIWATTANARUNGSEE et al., 2008).

As estratégias atuais de controle empregadas em áreas de infestação são: iscas tóxicas, fumigação com inseticidas de contato, armadilhas pegajosas e de choque (MALIK et al., 2007). Em tais ambientes, os repelentes são adjuvantes potencialmente úteis para as medidas de controle disponíveis e podem ser utilizados para evitar que moscas que não foram mortas por qualquer um dos métodos citados entrem em contato e contaminem substratos.

2.1.2 *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830)

As moscas da família Calliphoridae, são dípteros comuns na região neotropical, onde os gêneros *Cochliomyia*, *Comptosyiops*, *Lucilia*, *Calliphora* e *Chrysomya* estão associados à miíases em animais selvagens, domésticos e humanos (FIGUEIREDO et al., 2012; WALL, 2012).

O gênero *Lucilia* possui colorido metálico azul ou verde intenso, algumas vezes com reflexos acobreados e com numerosas cerdas no tórax. As espécies neotropicais mais conhecidas são: *Lucilia cuprina*, *L. eximia* e *L. sericata* (DE CARLI, 2008).

A espécie *L. cuprina* (Wiedemann, 1830), conhecida por mosca varejeira de ovelhas australianas (Australian sheep blowfly), possui uma distribuição cosmopolita, é produtora de miíases em ovinos, considerada uma praga de importância econômica significativa na agricultura neotropical (STEVENS e WALL, 1997; SANDEMAN et al., 2014).

Figura 2. *Lucilia cuprina* W.



Fonte: Mukandiwa et al. (2012)

A *L. cuprina* causa a conhecida miíase da lã na qual tem importância na saúde e bem-estar animal, bem como impactos na economia e na indústria de ovinos (SANDEMAN et al., 2014).

A fêmea necessita de suplementação proteica na alimentação para completar o desenvolvimento ovariano e fazer postura, colocam aproximadamente 100 a 300 ovos, durante toda a sua vida. Esse díptero possui atividade diurna e é atraída por estímulos visuais, olfatórios e gustatórios (DE CARLI, 2008), principalmente por odores da ovelha, associados com infecções bacterianas em lã úmida onde ela deposita seus ovos (TELLAM e BOWLES, 1997). As larvas em desenvolvimento se alimentam dos tecidos, causando sérios danos, toxemia, e em alguns casos a morte do animal. A consequente perda dos animais, custos nos tratamentos químicos, preventivo e curativo, questões de bem-estar animal, acarretam em encargos econômicos na pecuária (LANE et al., 2015).

As larvas eclodidas são suscetíveis a dessecação, por isso se movimentam em direção ao substrato. Em tecidos vivos permanecem abaixo da pele para alimentar-se do exsudato rico em proteína produzido pela pele irritada, causando extensas lesões. No terceiro estágio, a larva sai do hospedeiro e enterra-se no solo numa profundidade de 1 a 2 cm para pupar e completar o seu desenvolvimento. O ciclo completo de ovo até a fase adulta dura em torno de 15 a 20 dias (DE CARLI, 2008).

O controle desta praga utilizando inseticidas químicos é em grande parte eficaz na produção animal (WALL, 2012; SANDEMAN et al., 2014). No entanto, existe uma necessidade de medidas de controle em ambientes urbanos, onde a natureza sinantrópica dessa mosca faz dela um potencial disseminador de patógenos (PAES et al., 2005).

Diante disso, essa espécie de mosca desenvolveu resistência a várias classes de inseticidas químicos utilizados para o seu controle, incluindo organoclorados, organofosforados, benzoil-fenil-ureia diflubenzuron (SANDEMAN et al., 2014) assim como a triazina ciromazina (LEVOT, 2012), sendo que, apenas dois produtos químicos permanecem eficazes, sem resistência relatada, que são a lactona macrocíclica ivermectina e o diciclanil de cianopirimidina. Entretanto, ainda não existe um produto que seja capaz de eliminar todas as fases de desenvolvimento da mosca (BAGNALL et al., 2017).

2.2 INSETICIDAS QUÍMICOS

A ocorrência de produtos químicos nocivos no ambiente tornou-se uma questão de grande debate nas últimas décadas (BAO et al., 2015). A poluição ambiental causada por resíduos de pesticidas é uma grande preocupação em programas de saúde pública devido ao seu uso extensivo na agricultura (WALISZEWSKI et al., 1996). Os compostos organofosforados são um dos poluentes orgânicos mais encontrados no meio ambiente (TANG et al., 2009). A toxicidade dos inseticidas organofosforados causam efeitos adversos em muitos órgãos humanos (GUPTA, 2006). Os sistemas que podem ser afetados por esses compostos são o sistema nervoso, imunológico, hepático, muscular, urinário, reprodutivo e hematológico (BENJAMIN et al., 2006; AL-ATTAR, 2015; ABDEL-DAIM, 2016; LI et al., 2016).

O N, N-dietil-m-toluamida (DEET) tem sido um eficaz repelente sintético tópico de artrópodes hematófagos, utilizado comumente há décadas, mas seu uso tem gerado preocupações sobre sua toxicidade para organismos não-alvo (SINGH et al., 2010, KIM et al., 2011). A eficácia do DEET como repelente deve-se, em grande parte, à sua capacidade de impedir que os artrópodes hematófagos detectem odores atrativos (LEE et al., 2010). Este modo de ação "mascarante" pode não deter as moscas lambedoras de pousarem em superfícies e transmitirem patógenos. Muitos metabólitos secundários encontrados nos óleos essenciais de plantas têm sido demonstrados como sendo tóxicos e/ou repelentes para uma variedade de espécies de insetos (TRIPATHI et al., 2009).

2.2.1 Uso do organofosforado Diazinon

Os organofosforados estão entre os pesticidas químicos mais utilizados em todo o mundo (ZHANG et al., 2010) e são tóxicos para os seres humanos (SAFI, 2002). O inseticida mais utilizado na família química dos organofosfatos é o Diazinon (O,O-Dietil O-[4-metil-6-(propan-2-il)pirimidin-2-il] tiofosforato, fórmula química: $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$), o qual foi introduzido comercialmente em 1952 (SAYEGHI et al., 2010). É utilizado em todo o mundo na agricultura e horticultura para proteger as plantas dos insetos, em culturas, plantas ornamentais, gramados, frutas, vegetais e outros produtos alimentares (GRAFITT et al., 2002; TANG et al., 2009; SARABIA et al., 2009).

O principal mecanismo de ação do DZN é a inibição da enzima acetil-colinesterase (KAMANYIRE e KARALLIEDDE, 2004). Além disso, vários estudos demonstram que o

DZN é capaz de induzir alterações histopatológicas, bioquímicas e fisiológicas, causando sérios problemas de saúde (AL-ATTAR, 2009, 2015; ABDEL-DAIM, 2016).

Este composto é classificado pela Organização Mundial da Saúde como um produto químico Classe II altamente tóxico (ZHANG et al., 2010). Este produto é estável a pH 7 e não é facilmente volatilizado a partir do solo ou da água. Assim, pode persistir no ambiente por até seis meses (SAYEGHI et al., 2010). Além disso, os subprodutos de degradação do DZN representam riscos para a saúde dos seres humanos e do meio ambiente.

O uso indiscriminado desses produtos químicos resulta em poluição ambiental, efeitos nocivos para os seres humanos e outros animais, e desenvolvimento de resistência a inseticidas, o que acaba limitando a sua eficácia (KHAN et al., 2011).

Devido a esses problemas relatados do uso indiscriminado, resistência e toxicidade dos fármacos utilizados, existe a necessidade de desenvolver formas alternativas eficientes, que sejam seguras, ecológicas e que possam ser capazes de substituir os pesticidas sintéticos (TAPONDJOU et al., 2005).

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são substâncias voláteis naturais encontradas em uma variedade de plantas. Comercialmente, são utilizados como: produtos farmacêuticos, intensificadores de sabor em muitos produtos alimentares, como fragrâncias e como inseticidas. Os óleos vegetais têm recebido muita atenção pelos seus compostos bioativos que são potencialmente úteis contra insetos mostrando um largo espectro de atividade, baixa toxicidade a mamíferos e degradação rápida no ambiente (KUMAR et al., 2011).

As plantas desempenham um papel fundamental em sistemas ecológicos (GARCIA et al., 2007), sendo potenciais alternativas para o uso no controle de insetos, pois apresentam uma fonte rica de produtos químicos bioativos (QIN et al., 2010). Os óleos essenciais estão entre as substâncias mais conhecidas testadas contra insetos (PITASAWAT et al., 2007). Estes compostos atuam como fumigantes (CHOI et al., 2006), inseticidas de contato (TANG et al., 2007), repelentes (ISLAM et al., 2009) e podem afetar alguns parâmetros biológicos tais como taxa de crescimento (NATHAN et al., 2008), vida útil e reprodução dos insetos (ISIKBER et al., 2006).

Estudos realizados relacionam a atividade inseticida aos terpenoides que são os principais componentes de óleos essenciais e são constituídos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos. Tal atividade de monoterpenos tem sido relatada contra

várias pragas agrícolas e domésticas como tóxico de contato, fumigante, repelente e com ação anti-alimentação (LEE et al., 2003 e NATHAN et al., 2008).

As investigações sobre o uso de monoterpenos para o controle de ovos, larvas e pupas da mosca doméstica permanecem negligenciadas. A maioria dos estudos na literatura utiliza o ensaio de fumigação para o controle de adultos de *M. domestica*, porém, o ensaio de fumigação em adultos domésticos pode ser impraticável, uma vez que, adultos do sexo feminino permanecem confinadas em um espaço que permita a ação de fumigação dos óleos essenciais ou monoterpenos (KUMAR et al., 2014).

Os óleos essenciais têm recebido muita atenção por serem uma alternativa para solucionar o problema de resistência aos inseticidas químicos, já que os compostos naturais possuem um grande potencial contra insetos (MATHEW & THOPPIL, 2011).

2.3.1 *Pelargonium graveolens*

A família Geraniaceae compreende em torno de 750-800 espécies que incluem os gêneros: *Erodium*, *Geranium* e *Pelargonium* (SPICHIGER et al., 2002). O gênero *Pelargonium* compreende cerca de 270 espécies distintas, dentre essas, destacamos a espécie *Pelargonium graveolens* L'Her, conhecida popularmente como gerânio, gerânio rosa, gerânio rosa perfumado ou malva cheirosa, que se apresenta na forma de arbusto (BOUKHRIS et al., 2013; BENAZIR et al., 2013).

O gerânio é originário do sul da África e foi introduzido na Europa no século XVII, através do comércio de especiarias (MILLER, 2002) e na África do Norte como uma planta ornamental, que se adaptou bem para o clima mediterrâneo (BOUKHATEM et al., 2011).

O gerânio é uma planta importante economicamente, pela produção do óleo essencial que possui alto valor no mercado nacional e internacional e pelo seu odor profundo e forte (UPADHYAY et al., 2016), com propriedades, medicinais e aromáticos. Tradicionalmente, o gerânio era muito utilizado para sanar sangramentos, curar feridas, úlceras e doenças de pele, além de tratar diarreia, disenteria, doenças de pele, depressão, diabetes e cólicas (MATTHEWS, 1995). Suas atividades biológicas estão relacionadas com seus principais constituintes, como o citronelol e geraniol (SHAWL et al., 2006). Os extratos de *P. graveolens* são também utilizados na medicina popular como antibacteriano e inseticida (TABANCA et al., 2013), antifúngico (HASSANE et al., 2011) e também outras propriedades

farmacológicas tais como anti-inflamatório (MARUYAMA et al., 2006), espasmolítico (LIS-BALCHIN et al., 1997) e efeitos hipoglicêmicos (BOUKHRIS et al., 2012).

O óleo de gerânio (OG) demonstra ser não tóxico, não irritante, geralmente não sensibilizante e, portanto, não se conhece ainda nenhum efeito adverso (BOUKHATEM et al., 2013a).

O OG é obtido a partir das folhas e seus principais componentes possuem aceitação na indústria alimentar, uma vez são reconhecidos como geralmente seguros (GRAS) pela FEMA (1965) e aprovado pela *American Food and Drug Administration* (FDA) para uso alimentar (BOUKHATEM et al., 2013b).

Os principais constituintes são citronelol e geraniol (RANA et al, 2002), representando cerca de 70% do total do óleo essencial, sendo que o citronelol apresenta cerca de até 45% e uma menor quantidade de geraniol (<24%) e linalol (<14%) (WILLIAMS, 1996). Outros grandes componentes químicos são: formato de citronelol, formato de geraniol, isomentona e óxido de rosa. Alguns estudos analisaram a ação inseticida do óleo de gerânio, sendo os compostos como geraniol e citronelol autores principais da ação. Alguns estudos demonstraram atividade inseticida e fungicida quando utilizado o geraniol (TSAO et al, 2000), sendo geraniol e citronelo os principais constituintes inseticidas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a ação inseticida e repelente do óleo essencial de gerânio (*P. graveolens*) frente às espécies *M. domestica* e *L. cuprina*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito larvicida e aduicida do óleo essencial frente às moscas (*M. domestica* e *L. cuprina*);

- Avaliar o efeito repelente do óleo essencial frente às moscas adultas.

4 MANUSCRITO

INSECTICIDE AND REPELLENT EFFECT OF GERANIUM ESSENTIAL OIL (*Pelargonium graveolens*) IN *Musca domestica* AND *Lucilia cuprina*

Luana Carvalho Saraiva^{1,2,*}, Luciana Filippin Cossetin^{1,2}; Jéssica Carla Martins Couto¹;
Antônio Francisco Igor Magalhães de Matos²; Silvia González Monteiro^{2,**}

¹ Graduate Program in Pharmacology of the Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Department of Microbiology and Parasitology, Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Abstract

Musca domestica (Muscidae) is considered an important vector of dissemination of various infectious diseases transmitted by food. *Lucilia cuprina* (Calliphoridae), besides transmitting pathogens can produce myiasis in sheep. The use of essential oils with insecticidal activities has been extensively studied, providing a new alternative of treatment, since the synthetic insecticides due to their indiscriminate use has provoked an increase of resistant species and damages to the health. The objective of the present study was to investigate the insecticidal activity of *P. graveolens* essential oil in *M. domestica* and *L. cuprina*. A larvicidal test was performed by immersion and adulticidal tests with the techniques of exposure to impregnated paper, surface application and repellency test. The results showed that *P. graveolens* oil had no larvicidal potential in the tested species. In the exposure test to the impregnated paper, for 15 minutes, LC₅₀ was 5.9% for *M. domestica* and 3.5% for *L. cuprina*. In the surface application test, for 15 minutes the LC₅₀ was 2.5% for *L. cuprina* and 3.0% for *M. domestica*. The oil of *P. graveolens* at 1% presented a repellent effect. In view of this, *P. graveolens* oil may be an alternative to replace the use of chemical insecticides.

Keywords: phytotherapy, flies, geranium, monoterpenes

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: biomed.luana@hotmail.com (L.C. Saraiva), sgmonteiro@uol.com.br (S.G. Monteiro)

1. Introduction

The species *Musca domestica* (Muscidae) is considered an important disseminating contributor to several foodborne infectious diseases, such as cholera, shigellosis and salmonellosis (Sasaki et al. 2000). These flies, besides transmitting diseases, disturb human and animal activity (Singh et al. 2009), because they can perform oviposition on any moist surface or food, rich in organic matter, that may favor the development of larvae. The sites that present the highest infestation are animal and human excreta, litter, bed used in animal stalls and also in decaying organic matter (Greenberg 1973), mainly in tropical and subtropical countries where the heat and humid environment favor the development of these insects (Malik et al. 2007).

Another species that we can highlight is the *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae), commonly known as a blow fly, which is the main causative agent of sheep myiasis Australia, South Africa and New Zealand (Health and Bispo 2006). Myiasis occurs when flies oviposit near wounds or in moist areas of sheep wool and hatched larvae feed on tissues. The most common treatment of this disease is to cut the wool over the lesion, remove the larvae and apply an insecticide or repellent on the animal. The use of chemical pesticides (organophosphates, carbamates and pyrethroids) is important for the control of these insects, but the indiscriminate use of these products has favored the resistance of the flies, the deterioration of the environment and damages to animal and human health (Aktar et al. 2009).

In this context, one of the alternatives for reducing the population of these pests is the use of natural products, such as essential oils. *Pelargonium graveolens* oil, popularly known as geranium oil (GO), widely used in the cosmetic and food industry (Dormon and Deans 2000), has antifungal (Hassane et al. 2011) and antibacterial properties (Lalli et al. 2010), in addition to pharmacological properties such as anti-inflammatory (Maruyama et al. 2006), as spasmolytic (Lis-Balchin et al. 1997) and hypoglycemic effects (Boukhris et al. 2012). This

oil has been shown to be non-toxic, non-irritant, generally non-sensitizing, and no adverse effect known (Boukhatem et al. 2013). The objective of the present work was to evaluate the insecticidal and repellent activity of *P. graveolens* oil against *M. domestica* and *L. cuprina* species.

2. Material and Methods

2.1 Geranium essential oil acquisition and composition

P. graveolens essential oil, commercially known as geranium oil, was purchased from Sigma-Aldrich under lot number W530376-100G-K. The major compounds of the essential oil are citronellol (17.74%), geraniol (14.73%), 10-*epi*- γ -Eudesmol (9.52%), citronellyl formate (5.96%), geraniol formate (3.82%), menthone (2.48%) e isomenthone (2.11%).

2.2 Maintenance of colonies

The colonies were kept in entomological cages (30cm x 30cm x 30cm) at 25±1°C under a light/dark cycle (12/12h) and air relative humidity of 70%, according to the methodology of Deleito and Borja (2008) with modifications, the feeding of the adult flies consisted of honey, placed in a petri dish and water at ease. For oviposition, commercial pasty lamb feed for dogs was used for *M. domestica* and raw liver for *L. cuprina*. After the hatching of the larvae, they were fed commercial pasty meat feed for dogs and maintained under the same environmental conditions as adult flies. The larvae passed through the L1, L2 and L3 phases and transformed into pupae from which male and female adult flies hatched.

2.3 Susceptibility Tests

2.3.1 Immersion larvicidal test

The test was performed according to Bosly's methodology (2013) with modifications. The evaluation of the larvicidal action was carried out for the species of flies under the study with the immersion of the larvae in different concentrations of the oil (2,5%; 5%; 10%; 20%), diluted in Tween-80 (1%). These concentrations were selected after a previous study with lower concentrations ($< 2,5\%$) which presented no significant effect. The L3 larvae ($n = 20$) were placed in a 15 mL Falcon tube and treated with 5 mL of solutions for 5 minutes. To evaluate the effect of the surfactant used, only one group was tested with the Tween-80 solution (1%) as negative control and Diazinon (2%) as positive control. The tests were performed in triplicate under conditions of 23 ± 2 ° C and R.H of $65 \pm 5\%$.

2.3.2 *Adulticidal test due to exposure to impregnated paper*

The bioassay was performed according to the methodology proposed by Sheppard and Hinkle (1987) with modifications. The essential oil was diluted in Acetone P.A. (1%) to obtain the following concentrations: 1%, 2.5%, 5% e 10%. The filter paper was impregnated with the different concentrations and exposed to the environment for 15 minutes for solvent evaporation. Subsequently, each paper containing the different concentrations of the impregnated oil was placed in Petri dishes where 20 adult flies were inserted (5-7 days after hatching), for a period of 2 hours. The flies were submitted to low temperature anesthesia (-18°C for 165 seconds). Acetone and Diazinon (1%) were evaluated, in the negative control and positive control groups, respectively. All groups were evaluated in triplicate and analyzed at predetermined times (15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes) after the treatment.

2.3.3 Adulticidal test by surface application

Topical toxicity was assessed according to Sukontason et al. (2004) with modifications. The application of 2.5 μL for *M. domestica* and 3.0 μL for *L. cuprina* on adult flies thorax (5-7 days after hatching) previously anesthetized at a temperature of -18°C for 165 seconds. The application of acetone was also performed to analyze if the solvent has an insecticidal effect. For comparative purposes, the Diazinon organophosphate (1%) was used as a positive control. In this assay, triplicates containing 10 flies per replicate were evaluated for predetermined times for 2 hours (15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes) after treatment.

2.3.4 Repellency test

The repellency tests were performed according to Klauck's (2014) methodology with modifications, using apparatus with different compartments (Figure 1).

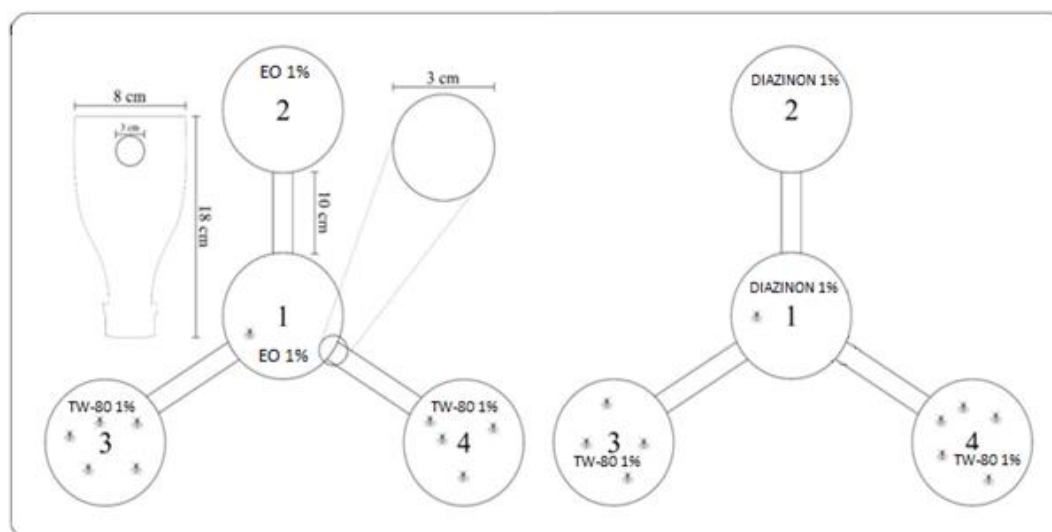


Figure 1. Apparatus to test essential oil repellency against flies. Cotton soaked with 1% geranium oil (test-solution) or Diazinon (1%) placed in compartments 1 and 2 and cotton soaked only with Tween-80 (1%) placed in compartments 3 and 4.

In first apparatus cotton soaked with 1 ml of essential oil were placed in compartment 1 and 2, and in the other apparatus, Diazinon 1% was used in these same compartments, cottons soaked with 1% Tween-80 (1 mL) were placed in compartments 3 and 4. The apparatus presented interconnections between the compartments in transparent 3.0 cm diameter pipes, which allowed the flies to remain in free movement (Figure 1).

The test started when the flies were placed in compartment 1 along with the cotton containing the test-solution. The compartments 2, 3 and 4 remained interconnected with compartment 1. During the evaluation, the flies were in free movement. For the evaluation of the repellent effect, all flies were counted in each compartment at 5-minute intervals for 2 hours.

2.4 Statistical analysis

Statistical analyzes were performed by analysis of variance with level of significance ($p < 0.05$). All variables were previously tested for normality and homogeneity with the Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. The differences between the groups were evaluated with the Student-Newman-Keuls test with 5% significance. Data were expressed as mean \pm standard deviation of the mean.

3 Results

3.1 Larvicidal Test

Geranium essential oil in all concentrations (2.5%, 5%, 10% e 20%) did not present significant difference in relation to the negative control (Tween-80 1%). The *M. domestica* larvae completed the cycle until adulthood by more than 83% in all concentrations and in the

negative control group, except in the EO 20% concentration that presented 60% of adult flies (Table 1). Diazinon 2% presented 100% larvicidal potential.

Table 1. Effects of *P.graveolens* essential oil on larvae, pupae and adult emergence after immersion of larvae of third stage of *M.domestica* (mean± standard deviation)

Treatments	Larvae Mortality (%)	Number of pupae (%)	Number of emerged adults (%)
Diazinon 2%	100 ^a	0 ^a	0 ^a
Tween 80 1%	0 ^b	100 ^b	93.3±7.6 ^b
EO 2.5%	0 ^b	100 ^b	86.6±10.4 ^b
EO 5%	0 ^b	100 ^b	88.3±11.5 ^b
EO 10%	1.66±2.9 ^b	98.3±2.9 ^b	83.3±20.2 ^b
EO 20%	20±17.3 ^b	80±17.3 ^b	60±22.9 ^b

*Post hoc analysis: significant differences ($p < 0.05$) between treatments are indicated letters.

EO: *P. graveolens* essential oil

Regarding the test performed with *L. cuprina* larvae, the essential oil did not present a statistically significant difference in relation to the negative control group (1% Tween-80). Regarding the emergence percentage of adult flies, the result of oil in concentrations of 10% (78%) and 20% (75%) was similar to the negative control group (73%). Diazinon presented 100% mortality of the larvae. (Table 2).

Table 2. Effects of *P. graveolens* essential oil on larvae, pupae and adult emergence after immersion of larvae of third stage of *L. cuprina* (mean ± standard deviation).

Treatments	Larvae Mortality (%)	Number of pupae (%)	Number of emerged adults (%)
Diazinon 2%	96.6±2.9 ^a	3.3±2.9 ^a	0 ^a
Tween 80 1%	6.6±2.9 ^b	91.6±2.9 ^b	73.3±2.9 ^{bc}
EO 2.5%	1.6±2.9 ^b	98.3±2.9 ^b	91.6±7.6 ^c
EO 5%	8.3±2.9 ^b	91.6±2.9 ^b	78.3±10.4 ^{bc}
EO 10%	0 ^b	100 ^b	66±12.6 ^b
EO 20%	6.6±7.6 ^b	93.3±7.6 ^b	75±8.6 ^{bc}

*Post hoc analysis: significant differences ($p < 0.05$) between treatments are indicated letters.

EO: *P. graveolens* essential oil

3.2 Adulticidal test by the method of exposure to impregnated paper

In Figure 2, we can observe that in the test with *M. domestica* exposed to the impregnated filter paper, the concentration of 2.5% of the EO of *P. graveolens* presented a higher mortality rate (80%) compared to Diazinon 1% (60%) exposure in a 15 minutes interval and in 60 minutes obtained the death of 100% of the flies. At 90 and 120 minutes, the essential oil (1%) killed 93% and 100% of the flies, respectively. Concentrations of 5% and 10% presented total mortality of the flies in 60 and 45 minutes, respectively.

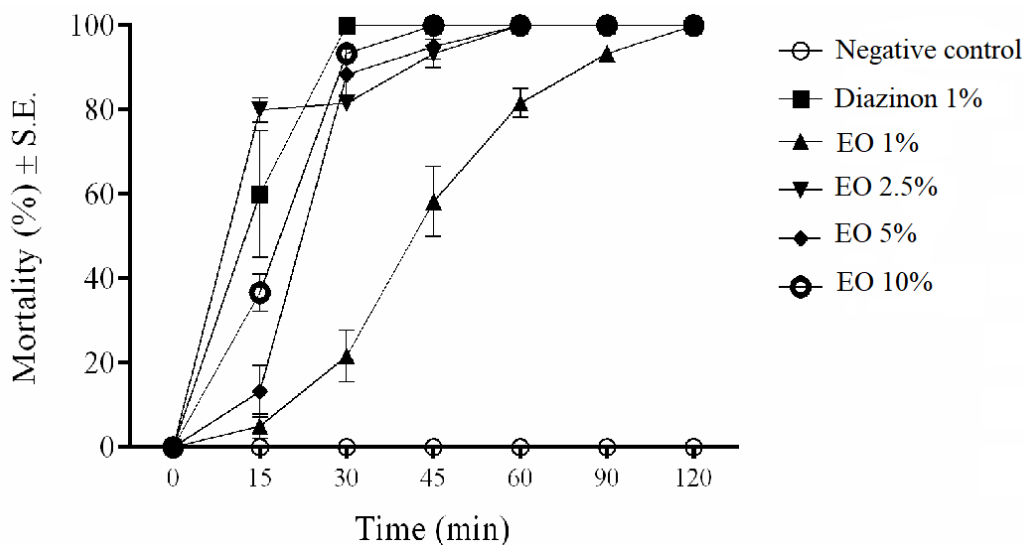


Figure 2. Adulticidal activity of *P. graveolens* essential oil in *M. domestica* by the impregnated paper method at different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%). *EO = *P. graveolens* essential oil; Negative control = Acetone 1%. The tests were performed in triplicate containing $n = 20$ per group.

In the test with *L. cuprina* exposed to the impregnated paper (Figure 3), the concentration of 1% after 60 minutes, presented 100% fly mortality. Concentrations of 1% and 2.5% showed similar mortality, killing all flies in 60 minutes. Concentrations of 5% and 10% obtained 100% mortality in 30 and 45 minutes, respectively. Diazinon eliminated 100% of the flies in 15 minutes.

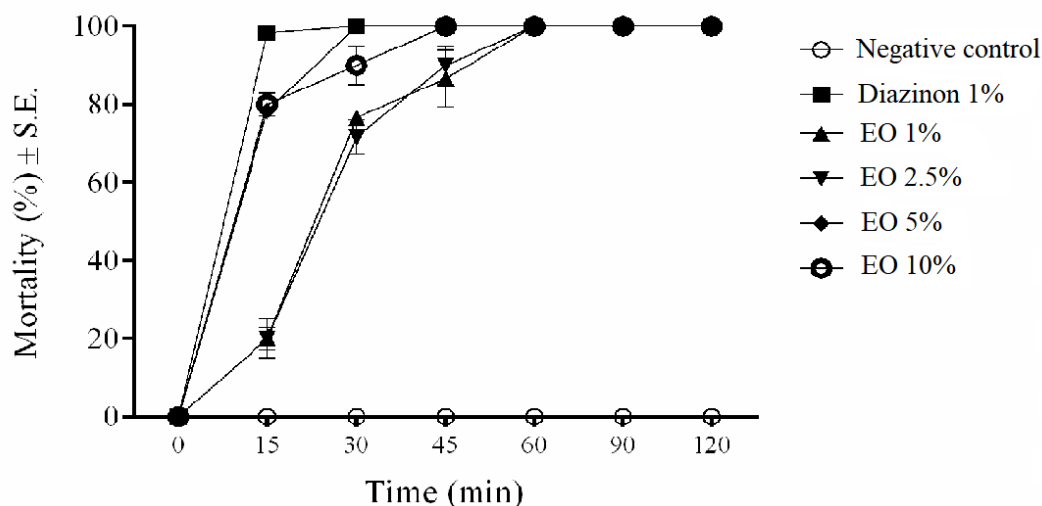


Figure 3. Adulticidal activity of *P. graveolens* essential oil in *L. cuprina* by the impregnated paper method at different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%). *EO = *P. graveolens* essential oil; Negative control = Acetone 1%. The tests were performed in triplicate containing n = 20 per group.

3.3 Adulticidal test by surface application method

In the surface application test in *M. domestica* (Figure 4), the EO of *P. graveolens* in the 2.5% concentration showed 70% mortality after 15 minutes of application, similar to the commercial insecticide Diazinon (1%), which obtained 73% of mortality of *M. domestica*. At 120 minutes after application, the concentration of 5% killed 100% of the flies. The 10% concentration of essential oil showed superior mortality (86%) compared to Diazinon (73%) in 15 minutes. After 30 minutes, the 10% concentration presented mortality of 96.6% and Diazinon 100%.

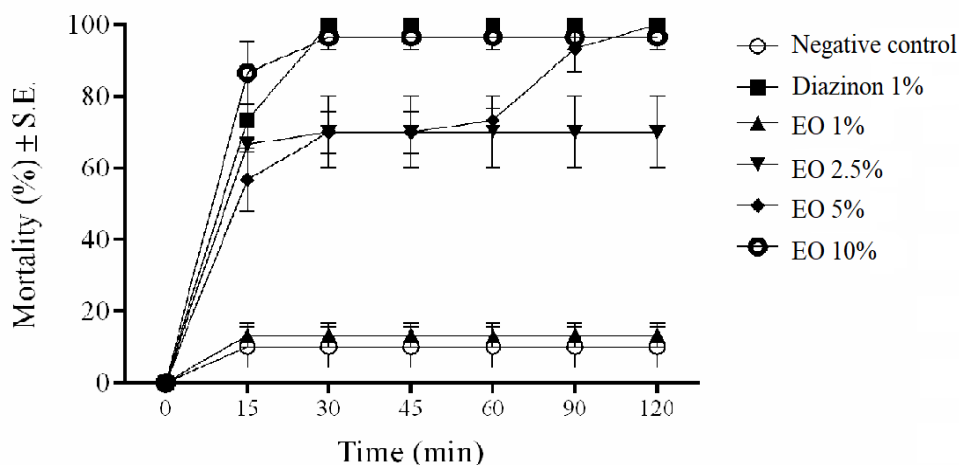


Figure 4. Adulticidal activity of the essential oil of *P. graveolens* in *M. domestica* by the surface application method in different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%). *EO= *P. graveolens* essential oil; Negative control = Acetone 1%. The tests were performed in triplicate containing n = 10 per group.

For the *L. cuprina* species (Figure 5), the 5% concentration presented increasing mortality, and in 15 minutes, it obtained 83%, in 30 minutes 93% and after 45 minutes, it obtained 96.6% of death. The 10% concentration presented mortality of 100% in 45 minutes. Diazinon presented 100% mortality of insects after 30 minutes of application. The 1% EO concentration did not present a statistically significant difference in relation to acetone 1% (negative control).

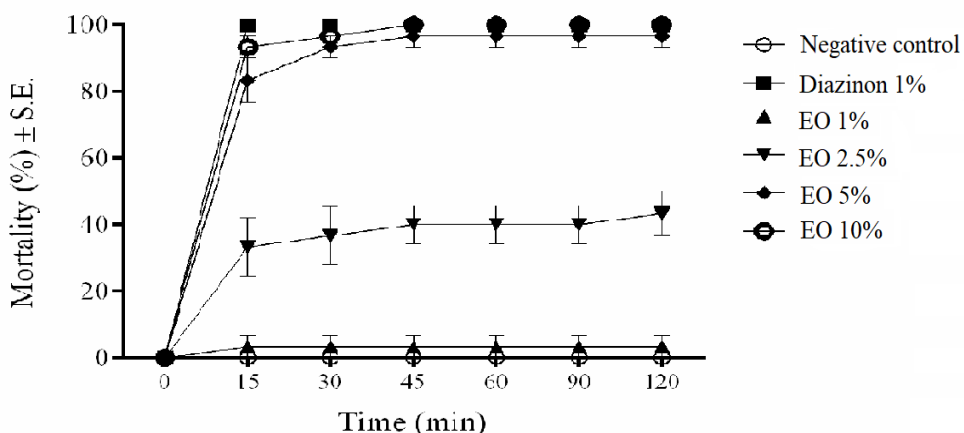


Figure 5. Adulticidal activity of the essential oil of *P. graveolens* in *L. cuprina* by the surface application method in different concentrations (1%, 2.5%, 5% and 10%). *EO= *P. graveolens* essential oil; Negative control = Acetone 1%. The tests were performed in triplicate containing n = 10 per group.

3.4 Lethal Concentration (LC₅₀) *P. graveolens* essential oil

Table 3 shows that in the 15 minute period of the surface application test the essential oil of *P. graveolens* presented LC₅₀ lower for *M. domestica* (2.5%) than for *L. cuprina* (3.0%) and in the impregnated paper test the EO presented lower LC₅₀ for *L. cuprina* (3.5%) compared to *M. domestica* (5.9%).

Table 3 – Comparison between surface application and impregnated paper methods of *P. graveolens* essential oil (LC₅₀) against *M. domestica* and *L. cuprina* during 15 minutes.

	<i>Musca domestica</i>	<i>Lucilia cuprina</i>
Surface application		
LC ₅₀ (%;w/v)	2.5 ± 0.5	3.0 ± 0.5
Slope+SE	0.73 ± 0.64	2.15 ± 1.2
X ²	0.4467	0.85
N	12	12
Impregnated paper		
LC ₅₀ (%;w/v)	5.9 ± 0.82	3.5 ± 0.67
Slope+SE	2.43 ± 0.71	1.95 ± 1
X ²	0.9499	0.8221
N	12	12

* LC₅₀, Lethal Concentration

3.5 Repellency Test

The repellency test for *M. domestica* and *L. cuprina* (Figures 6 and 7) did not present a statistically significant difference in relation to the positive control Diazinon.

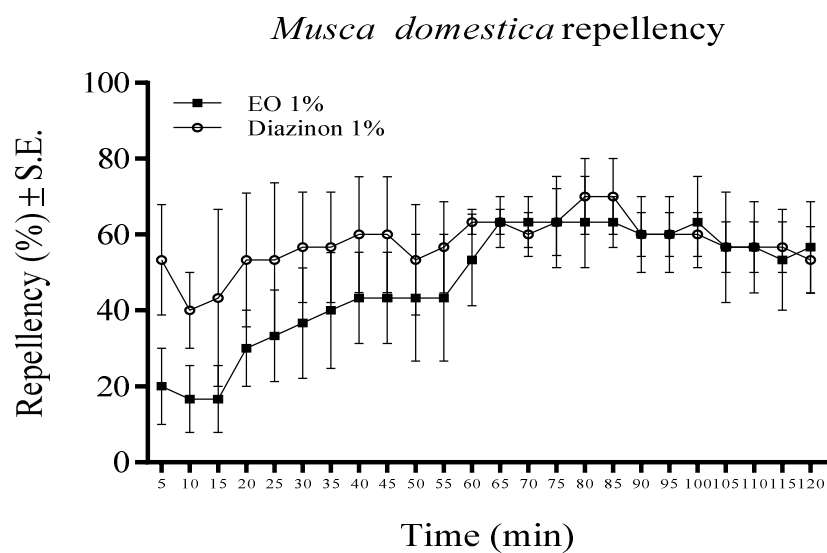


Figure 6. Repellency of *P. graveolens* 1% oil against *M. domestica* (average number of repellency (%) \pm error deviation). *Post hoc analysis: significant differences ($p < 0.05$) between treatments.

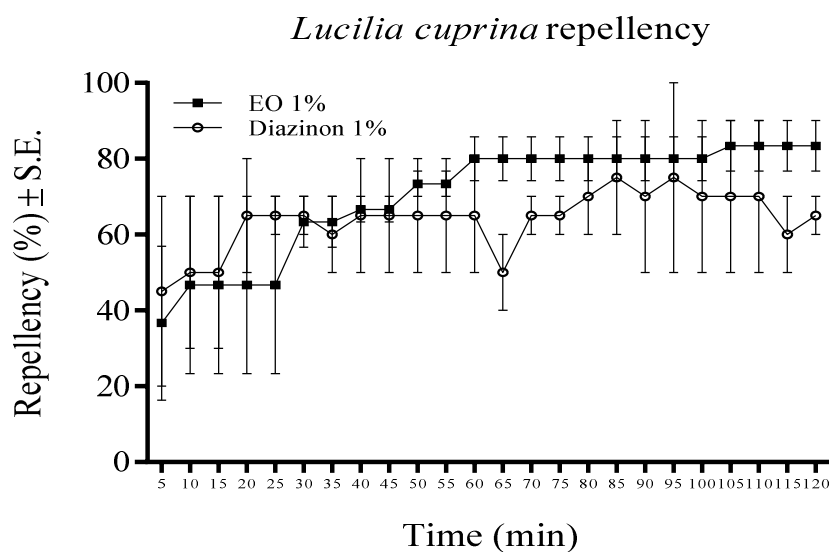


Figure 7. Repellency of *P. graveolens* 1% oil against *L. cuprina* (average number of repellency (%) \pm error deviation). *Post hoc analysis: significant differences ($p < 0.05$) between treatments.

4 Discussion

P. graveolens produces large amounts of essential oil (Kolodziej 2000). Its main components are citronellol (17.7%), geraniol (14.7%), 10-epi- γ -Eudesmol (9.5%), citronellyl

formate (5.9%) and geraniol, as major components. The pesticidal activities of *P. graveolens* essential oil are associated with a large amount of oxygenated monoterpenes, mainly citronellol and geraniol (trans-geraniol), isomenthone, linalool and geraniol formate (Babu and Kaul 2005; Bouzenna and Krichen 2012).

In the immersion larvicidal bioassay, our test-solutions presented no significant difference compared to the negative control (Tween-80 1%), both for *M. domestica* larvae and for *L. cuprina*, that is, *P. graveolens* oil did not present larvicidal activity in all evaluated concentrations (2.5%, 5%, 10% and 20%). The positive control Diazinon (2%) presented a larvicidal action of 100% of the larvae of *M. domestica* and guaranteed the death of 96.6% of the larvae of *L. cuprina*, although 3.3% pupated, there was no adult fly birth. In the study by Rios et al. (2017), different essential oils were tested, including *P. graveolens* oil in *Aedes aegypti* larvae, which showed LC₅₀ of 108.96 mg/L and LC₉₅ of 176.61 mg/L in 24 hours after treatment, in 48h the LC₅₀ was 113.1 mg/L and LC₉₅ was 198.5 mg/L, showing that the essential oil presented larvicidal effect under higher concentrations.

In the adulticidal test of exposure to impregnated filter paper made with *M. domestica*, the concentration of 2.5% of the essential oil showed a higher pesticide potential, with a mortality of 80% of the insects, compared to the commercial insecticide Diazinon (1%) which presented mortality of 60% during 15 minutes and in 60 minutes the EO killed 100% of the flies. The EO 1% was effective at 90 and 120 minutes of exposure, with fly mortality of 93.3% and 100%, respectively. The concentration of 5% presented mortality of 95% and 100% in 45 and 60 minutes of exposure, respectively. The concentration of 10% obtained 93.3% and 100% of deaths after 30 and 45 minutes respectively. For *L. cuprina*, EO concentrations at 1% and 2.5% showed similar effects at all test times and at 60 minutes, concentrations killed 100% of the flies. The concentrations of 5% and 10% also showed similar mortality at all concentrations, but the concentration of 5% was more effective at 30 minutes, because it

killed 100% of the flies and the concentration of 10% obtained 90% mortality in the same period. The Diazinon control presented total adulticidal effect at the 15 minutes of testing. Bouzenna and Krichen (2012) also observed the insecticidal effect of *P. graveolens* EO on cereal beetles (*Rhyssopertha dominica*) after exposure to increasing concentrations of essential oil during the 21-day period, in which 100% of the insects were killed.

In regard the surface application test with the houseflies, the EO 1% did not show a significant difference compared to the negative control (acetone 1%), presenting similar mortality at all evaluated times. The EO 5% presented 93% of mortality from 90 minutes and in 120 minutes, all the flies died. 15 minutes after the application, the EO 10% showed mortality of 86% of the insects, superior to Diazinon 1% that eliminated 73% of the flies. After 30 minutes, the Diazinon and EO 10% presented 100% and 96% mortality, respectively. Regarding the *L. cuprina*, the EO 5% and 10% had higher mortality rates of 96.6% and 100% flies, respectively, at 45 minutes after application. Diazinon killed 100% of flies in 15-minute test.

By checking the results of the two adulticidal tests with both species, the impregnated paper test presented greater efficacy in fly mortality than the topical application test, at concentrations of 1% and 2.5%, but with a longer time compared to Diazinon.

The lethal concentration (LC₅₀) demonstrated for *M. domestica* at 15 minutes of exposure to the impregnated paper was 5.9% and for *L. cuprina* it was 3.5%. In the topical application test, LC₅₀ was lower for *M. domestica* and *L. cuprina* with 2.5% and 3.0%, respectively.

Niculau et al. (2013) tested EO of *P. graveolens* and major compounds alone, in caterpillars (*Spodoptera frugiperda*), using topical application with average lethal dose (LD₅₀) of 1.13 µg/mg of insect and LD₉₀ of 2.56 µg/mg of insect. The positive control used was the natural insecticide Azamax (3 µg/mg of insect), which belongs to moderately toxic

toxicological class, considered less toxic than Diazinon (highly toxic). The isolated compounds, geraniol and linalool caused mortality of 30% and 90% of the caterpillars, respectively, larger than the Azamax that obtained 14% of deaths. In our study, the geranium oil in its free form presented high insecticidal potential at 5% concentration in the two methods studied, but with a slower action than Diazinon, which practically killed all the flies.

As for the repellency test, the EO 1% presented a repellent action against the *M. domestica* from 55 minutes and, after 65 minutes, 60% of the flies were repelled. Regarding the *L. cuprina* the EO repellency of *P. graveolens* was higher than the Diazinon from 35 minutes, with repellence close to 70% of the flies. From 60 minutes, EO reached repellency of 80% of the insects.

Studies have shown that the EO of *P. graveolens* at concentration of 0.25 mg/cm² also presented repellent action for females of the *Stomoxys calcitrans* fly with protection time of 24.5 minutes (Hieu et al. 2010), as well as for *Amblyomma americanum* tick nymphs using the essential oil in its free form, and also the 10-epi- γ -Eudesmol compound isolated at the concentration of 0.1 and 0.05 mg/cm² by the impregnated filter paper method, in which they repelled 90% and 73.3% of the ticks, respectively. The isomenthone and linalool compounds showed no repellent potential (Tabanca et al., 2013). However according to the literature the compounds of *P. graveolens* responsible for the repellent action are: 10-epi- γ -Eudesmol, citronellol, geraniol, citronellyl formate and geraniol formate (Tabanca et al. 2013).

CONCLUSION

Based on the results presented, the essential oil of *P. graveolens* did not show a larvicidal effect against *M. domestica* and *L. cuprina*. However, it presented an insecticidal effect through the adulticidal method of the impregnated paper in all the tested concentrations and also in the surface application test at concentrations of 5% and 10%. In addition, *P.*

graveolens also presented repellent action against both species and could be used as an alternative to the use of chemical insecticides.

Compliance with ethical standards

The present research work complies with all the ethical guidelines.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Aktar W, Sengupta D, Chowdhury A (2009) Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip Toxicol* 2(1):1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- Babu KGD, Kaul VK (2005) Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation techniques. *Flavour Fragrance J.* 20: 222–231
- Boukhatem MN, Kameli A, Ferhat MA, Saidi F, Mekarnia M (2013) Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. *Libyan J Med* 8:1-7
- Boukhris M, Bouaziz M, Feki I, Jemai H, El Feki A, Sayadi S (2012) Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. In alloxan induced diabetic rats. *Lipids in Health Dis* 11:1-10, 2012
- Bouzenna H, Krichen L (2012) *Pelargonium graveolens* L'Her. And *Artemisia arborescens* L. essential oils: chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhyssopertha dominica*. *Nat Prod Res* 27:841-846
- Callander JT, James PJ (2012) Insecticidal and repellent effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil against *Lucilia cuprina*. *Vet Parasitol* 184 (2012) 271–278
- Chauhan N, Malik A, Sharma S, Dhiman RC (2016) Larvicidal potential of essential oils against *Musca domestica* and *Anopheles stephensi*. *Parasitol Res* 115:2223–2231
- Deleito CSR, Borja GEM (2008) Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. *Pesq Vet Bras* 28:293-298

Dormon HJ, Deans SG (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 88:308–316

Gallardo A, Picollo MI, Mougabure-cueto G (2015) Lethal activity of individual and mixed monoterpenoids of geranium essential Oil on *Musca domestica*. *Parasitol Res* 114:1229–1232

Greenberg B (1973) Flies and Disease. Biology and disease transmission. Princeton, New Jersey

Hassane SOS, Ghanmi M, Satrani B, Mansouri N, Mohamed H, El Hajaji H. et al (2011) Composition chimique et activités antibactériennes, antifongiques et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* Ehrh. ex Wilde des Comores. *Acta Bot Gallica* 158:225-237

Heath ACG, Bishop DM (2006). Flystrike in New Zealand: an overview based on a 16-year study, following the introduction and dispersal of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). *Vet Parasitol* 137:333–344.

Hieu TT, Il Kim S, Lee SG, AHN YJ (2010) Repellency to *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) of Plant Essential Oils Alone or in Combination With Calophyllum inophyllum Nut Oil. *J Med Entomol* 47: 575-580

Klauck V, Pazinato R, Stefani L, Santos R, Vaucher R, Baldissera M, Raffin R, Boligon A, Athayde M, Machado G, Da Silva AS (2014) Insecticidal and repellent effects of tea tree and andiroba oils on flies associated with livestock. *Med Vet Entomol* 28: 33-39

Kolodziej H (2000) Traditionally used Pelargonium species: Chemistry and biological activity of umckaloabo extracts and their constituents. *Phytother* 3:77-93

Lalli JY, Viljoen AM, Van Vuuren SF (2010) Potential interaction between the volatile and non-volatile fractions on the in vitro antimicrobial activity of three South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species. *Nat Prod Commun* 5:1395-1400

Lis-balchin M, Hart S, Roth G (1997) The spasmolytic activity of the essential oils of scented *Pelargoniums* (Geraniaceae). *Phytother Res* 11:583-584

Malik A, Singh N, Satya S (2007) House fly (*Musca domestica*): a review of control strategies for a challenging pest. *J Environ Sci Health B* 42:453–469

Maruyama N, Ishibashi H, Hu W, Morofuji S, Inouye S, Yamaguchi H et al (2006) Suppression of carrageenan and collagen II-induced inflammation in mice by geranium oil. *Mediators of Inflamm* 53:625-637

Niculau ES, Alves PB, Nogueira PCL e Moraes VRS, Matos AP, Bernardo AR, Volante AC, Fernandes JB, Da SilvaMFGF, CorrêaAG; Blank AF, Silva AC, Ribeiro LP (2013) Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* l'Herit e *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Quim Nova* 36:1391-1394

Sasaki T, Kobayashi M, Agui N (2000) Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* O157:H7 to food. *J Med Entomol* 37:945–949

- Sheppard DC, Hinkle NC (1987). A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. *J Agr Entomol* 4:87-89
- Singh V, Mishra N, Awasthi G, Dash AP, Das A (2009) Why is it important to study malaria epidemiology in India? *Trends Parasitol* 25:452–457
- Sukontason K et al (2007) Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. *Parasitol Res* 101:1417–1423
- Tabanca N, Wang M, Avonto C, Chittiboyina AG, Parcher JF, Carroll JF, Kramer M, Khan IA (2013) Bioactivity-guided investigation of geranium essential oils as natural tick repellents. *J Agric Food Chem* 25:1–7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-DAIM, M.M. Synergistic protective role of ceftriaxone and ascorbic acid against subacute diazinon-induced nephrotoxicity in rats. **Cytotechnology**, v. 68, n.2, p. 279–289, 2016.
- AL-ATTAR, A.M. Effect of grapeseed oil on diazinon-induced physiological and histopathological alterations in rats. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.22, n.3 p. 284–292, 2015.
- AL-ATTAR, A.M. The ameliorative role of b-carotene pretreatment on diazinon-induced enzymological and histopathological changes in Wistar male rats. **Global Journal of Pharmacology**, v.3, n.3, p.171–177, 2009.
- BAGNALL, N.H.; HINES, B.M.; LUCKE, A.J.; GUPTA, P.K.; REID, R.C.; FAIRLIE, D.P.; KOTZE, A.Z. Insecticidal activities of histone deacetylase inhibitors against a dipteran parasite of sheep, *Lucilia cuprina*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. v.7, n.1, p. 51-60, 2017.
- BAO, L.J.; WEI, Y.L.; YAO, Y.; RUAN, Q.Q.; ZENG, E.Y. Global trends of research on emerging contaminants in the environment and humans: a literature assimilation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n.3, p.1635–1643, 2015.
- BARIN, A.; ARABKHAZZELI, F.; RAHBARI, S.; MADANI, S.A. The housefly, *Musca domestica* L. as a possible mechanical vector of Newcastle disease virus in the laboratory and field. **Medical and Veterinary Entomology**, v.24, n.1, p. 88–90, 2010.
- BENAZIR, J.F.; SUGANTHI, R.; CHANDRIKA, P.; MATHITHUMILAN, B. In-vitro regeneration and transformation studies on *Pelargonium graveolens* (geranium)—an important medicinal and aromatic plant. **Journal of Medicinal Plant Research**. v.7, n.38, p. 2815–2822, 2013.
- BENJAMIN, N.; KUSHWAH, A.; SHARMA, R.K.; KATIYAR, A.K. Histopathological changes in liver, kidney and muscles of pesticides exposed malnourished and diabetic rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.44, n.3, p. 228–232, 2006.

- BOSLY, A. H. Evaluation of insecticidal activities of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* essential oils against house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Journal of Entomology and Nematology**, v.5, n. 4, p.50 – 54, 2013.
- BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; FERHAT, M.A.; SAIDI, F.; MEKARNIA, M., Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 8, n.22520, p. 1-7, 2013a.
- BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food Control**. v. 34, n.1, p. 208-213, 2013b.
- BOUKHATEM, M. N.; SAIDI, F.; HAMAIDI, M. S.; HAKIM, Y.; MEKARNIA, M. Crop and industrial exploitation of rose scented geranium (*Pelargonium graveolens*): state of the art and perspectives. **Phytothérapie**. v. 9, n.5, p. 304-309, 2011.
- BOUKHRIS, M.; BOUAZIZ, M.; FEKI, I.; JEMAI, H.; EL FEKI, A.; SAYADI, S. Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. in alloxan induced diabetic rats. **Lipids in Health and Disease**. v.11, n.1, p. 1-10, 2012.
- BOUKHRIS, M.; NASRI-AYACHI, M.B.; MEZGHANI, I.; BOUAZIZ, M.; BOUKHRIS, M.; SAYADI, S. Trichomes morphology, structure and essential oils of *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Geraniaceae). **Industrial Crops and Products**. v.50, p.604-610, 2013.
- CHOI, W. S.; PARK, B. S.; LEE, Y. H.; JANG, D.Y.; YOON, H.Y.; LEE, S. E. Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. **Crop Protection**, v. 25, n.4, p. 398–401, 2006.
- DE CARLI, G. A. **Parasitologia Clínica – Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratórios para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas**. Atheneu. 2^a ed, 2008.
- FEMA (Flavoring Extract Manufacturer's Association). Survey of flavoring ingredient usage levels. n. 2508, 1965.
- FIGUEIREDO, A. L.; FELIPPE, T. G.; VINHAS, F. A.; CARVALHO, R. P.; AZEVEDO, W. T. A.; LESSA, C. S. S.; AGUIAR, V. M. *Lucilia cuprina* (Weid, 1830) (Diptera: Calliphoridae) associated with human myiasis in patients of Federal Hospital of Andaraí, Rio de Janeiro, RJ. **Proceedings of Brazilian Congress of Entomology**. 2012.
- FORSTER, M.; KLIMPEL, S.; MEHLHORN, H.; SIEVERT, K.; MESSLER, S.; PFEFFER, K. Pilot studies on synantropic flies (e.g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fania*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms. **Parasitology Research** v.101, n.1, p. 243–246, 2007.
- GARCIA, M.; GONZALEZ-COLOMA, A.; DONADEL, O.J.; ARDANAZ, C.E.; TONN, C.E.; SOSA, M.E. Insecticidal effects of *Flourensia oolepis* Blake (Asteraceae) essential oil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.35, n. 4, p.181–187, 2007.
- GRAFITT, S. J.; JONES, K.; MASON, H.J.; COCKER, J. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. **Toxicology Letters**, v.134, n.1-3, p. 105–113, 2002.
- GREENBERG B. **Flies and Disease**. Biology and Disease Transmission. Princeton, New Jersey, v.2, 1973.

GUPTA, R.C. Toxicology of Organophosphates and Carbamate Compounds. **Elsevier Academic Press**, 2006.

HASSANE, S. O. S.; GHANMI, M.; SATRANI, B.; MANSOURI, N.; MOHAMED, H.; EL HAJAJI, H. et al. Composition chimique et activités antibactériennes, antifongiques et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* Ehrh. ex Wilde des Comores. **Acta Botanica Gallica**, v.158, n.2, p. 225-237, 2011.

ISIKBER, A. A.; ALMA, M. H.; KANAT, M.; KARCI, A. Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 2, p. 167–177, 2006.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 197–204, 2011.

JUNAID, Z.; NAQQASH, M. N.; SAEED, S.; ZAKA, S. M.; JALEEL, W.; IDREES, N.; BAKHTAWAR, M.; REHMAN, S.; SAEED, Q.; BUKHARI, A.; LATIF, A. Pest status of housefly (*Musca domestica* L.) according to the opinion of community of southern Punjab, **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 7, p.1332–1338, 2014.

KAMANYIRE, R.; KARALLIEDDE, L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. **Occupational Medicine**, v. 54, n.2, p. 69–75, 2004.

KHAN, H.A. A.; WASEEM, A.; KHURRAM, S.; SHAALAN, E. A. First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. **Parasites & Vectors**, v.146, n.4, p.1-18, 2011.

KHOBDEL, M.; JONAIIDI, N.; SEIEDI, M. Blowfly and flesh (Diptera: Cyclorrhpha) fauna in Tehran, Iran. **Journal of Entomology**, v.5, n.3, p.185–192, 2008.

KIM, I. S.; REN, X.; CHANG, J. S.; LEE, J.W.; YU, H. W.; KIM, S. J.; HEO, J. S.; JANG, A.; HAN, H. J. The effect of environmental micropollutant (DEET) on the expression of cell cycle and apoptosis regulatory proteins in human cells. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v.16, n.2, p.400–406, 2011.

KUMAR, P., MISHRA, S., MALIK, A., SATYA, S. Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly *Musca domestica*. **Medicine and Veterinary Entomology**, v.25, n.3, p.302–310, 2011.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Biocontrol potential of essential oil monoterpenes against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.100, p.1-6, 2014.

LANE, J.; JUBB, T.; SHEPHERD, R.; WEBB-WARE, J.; FORDYCE, G. Priority List of Endemic Diseases for the Red Meat Industries. **Meat and Livestock Australia**, 2015.

LEE, S.; PETERSON, C.J.; COATS, J.R. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. **Journal of Stored Products Research**, v.39, n.0, p.77–85, 2003.

LEE, Y.; KIM, S.H.; MONTELL, C. Avoiding DEET through insect gustatory receptors. **Neuron**, v. 67, n.4, p. 555–561, 2010.

- LI, S.; CAO, C.; SHI, H.; YANG, S.; QI, L.; ZHAO, X.; SUN, C. Effect of quercetin against mixture of four organophosphate pesticides induced nephrotoxicity in rats. **Xenobiotica**, v. 46, n.3, p. 225–233, 2016.
- LIS-BALCHIN, M.; HART, S.; ROTH, G. The spasmolytic activity of the essential oils of scented *Pelargonium*s (Geraniaceae). **Phytotherapy Research**, v.11, n.8, p. 583-584, 1997.
- MARUYAMA, N.; ISHIBASHI, H.; HU, W.; MOROFUJI, S.; INOUE, S.; YAMAGUCHI, H.; et al. Suppression of carrageenan and collagen II-induced inflammation in mice by geranium oil. **Mediators of Inflammation**, v.53, n.3, p. 625-637, 2006.
- MATHEW, J.; THOPPIL, J.E. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of Salvia essential oils. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, n.5, p.456-463, 2011.
- MATTHEWS, A .J. Geranium leaves for cracked nipples. **Australian Journal of Hospital Pharmacy**, v.25, n.6, p.538–539, 1995.
- MILLER, D. M. The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild. Geranium and *Pelargonium*s: The genera *Geranium* and *Pelargonium*. In M. Lis-Balchin (Ed.). **Medicinal and aromatic plants-industrial profiles**. p.49-79, 2002.
- MUKANDIWA, L.; MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N.; NAIDOO, V. Extracts of four plant species used traditionally to treat myiasis influence pupation rate, pupal mass and adult blowfly emergence of *Lucilia cuprina* and *Chrysomya marginalis* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n.3, 812–818, 2012.
- NATHAN, S.S.; HISHAM, A.; JAYAKUMAR, G. Larvicidal and growth inhibition of the malaria vector *Anopheles stephensi* by triterpenes from *Dysoxylum malabaricum* and *Dysoxylum beddomei*. **Fitoterapia**, v.79, n.2, p. 106–111, 2008.
- NIU, Y.; ZHENG, D.; YAO, B.; CAI, Z.; ZHAO, Z.; WU, S.; CONG, P.; YANG, D. A novel bioconversion for value-added products from food waste using *Musca domestica*. **Waste Management**, v.61, n.5, p. 455-60, 2016.
- ODUM, E.P. **Ecologia**. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1983. 434 p.
- OLSEN A.R. Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials. III. Review of flies and foodborne enteric diseases. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 199–211, 1998.
- PAES, M.J.; BRITO, L.G.; MOYA-BORJA, G.E.; DAEMON, E. Comportamento reprodutivo e longevidade de casais isolados e agrupados de *Lucilia cuprina*, sob condições controladas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.14, n.1, p.21–25, 2005.
- PHOKU, J.Z.; BARNARD, T. G.; POTGIETER, N.; DUTTON, M. F. Fungal dissemination by housefly (*Musca domestica* L.) and contamination of food commodities in rural areas of South Africa. **International Journal of Food Microbiology**. v.217, n.0, p.177–181, 2016.
- PITASAWAT, B.; CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; JITPAKDI, A.; CHAITHONG, U.; KANJANAPOTHI, D.; RATTANACHANPICHAI, E.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG, D.; TUETUN, B.; CHAIYASIT, D. Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. **Fitoterapia**, v.78, n.3, p. 205–210, 2007.
- PRADO, A.P. Controle das principais espécies de moscas em áreas urbanas. **Biológico**, v. 65, n. 1-2, p. 95-97, 2003.

QIN, W.; HUANG, S.; LI, C.; CHEN, S.; PENG, Z. 2010. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n.0, p. 132–139, 2010.

RANA, V. S.; JUYAL, J. P.; BLAZQUEZ, M. Chemical constituents of essential oil of *Pelargonium graveolens* leaves. **International Journal Aromatherapy**. v. 12, n. 4, p. 216-218, 2002.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n.0, p. 405-424, 2012.

ROGER, D.M. 14–Muscid Flies (Muscidae). **Medical and Veterinary Entomology**, p. 279–301, 2002.

SAFI, JM. Association between chronic exposure to pesticides and recorded cases of human malignancy in Gaza Governorates (1990 e 1999). **Science of The Total Environment**, v. 284, n.1-3, p.75-84, 2002.

SANDEMAN, R. M.; LEVOT, G. W.; HEATH, A. C. G.; JAMES, P. J.; GREEFF, J. C.; SCOTT, M. J.; BATTERHAM, P.; BOWLES, V. M. Control of the sheep blowfly in Australia and New Zealand – are we there yet. **International Journal of Parasitology**, v.44, n.12, p. 879–891, 2014.

SARABIA, L.; MAURER, I.; BUSTOS-OBREGO, N. E. Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, n.3, p. 938–942, 2009.

SASAKI T.; KOBAYASHI, M.; AGUI, N. Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* O157:H7 to food. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n.6, p. 945–949, 2000.

SHAWL, A.S.; KUMAR, T.; CHISHI, S. S. Cultivation of rose scented Geranium (*Pelargonium* sp.) as a cash crop in Kasmir Valley. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.5, n.4, p.673-675, 2006.

SINGH, S.P.; AZUA, A.; CHAUDHARY, A.; KHAN, S.; WILLET, K.L.; GARDINALI, P.R. Occurrence and distribution of steroids, hormones and selected pharmaceuticals in South Florida coastal environments. **Ecotoxicology**, v.19, n.2, p. 338–350, 2010.

SIRIWATTANARUNGSEE, S., SUKONTASON, K.L., OLSON, J.K., CHAILAPAKUL, O., SUKONTASON, K. Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly. **Parasitology Research**, v. 103, n.3, p.535–544, 2008.

SPICHIGER, R.E.; SAVOLAINEN, V.V.; FIGEAT, M.; JEANMONOD, D. **Botanique systématique des plantes à fleurs**. Collection Biologie. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. v.2, 2002.

STEVENS, J; WALL, R. The evolution of ectoparasitism in the genus *Lucilia* (Diptera: Calliphoridae). **International Journal of Parasitology**, v.27, n.1, p. 51–59, 1997.

TABANCA, N.; WANG, M.; AVONTO, C.; CHITTIBOYINA, A.G.; PARCHER, J.F.; CARROLL, J.F.; KRAMER, M.; KHAN, I.A. Bioactivity-guided investigation of geranium essential oils as natural tick repellents. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.61, n.17, p. 4101–4107, 2013.

- TANG, G. W.; YANG, C. J.; XIE, L.D. Extraction of *Trigonella foenum-graecum* L. by supercritical fluid CO₂ and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Pest Science**, v.80, n.0, p. 151–157, 2007.
- TANG, J.; ZHANG, M.; CHENG, G.; LU, Y. Diazinon determination using high performance liquid chromatography: a comparison of the ENVI-Carb column with the immunoaffinity column for the pretreatment of water and soil samples. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.83, n.5, p. 626–629, 2009.
- TAPONDJOU, A. L.; ADLER, C.; FONTEM, D. A.; BOUDA, H.; REICHMUTH, C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n.1, p. 91–102, 2005.
- TELLAM, R.L.; BOWLES, V.M. Control of blowfly strike in sheep: current strategies and future prospects. **International Journal of Parasitology**, v.27, n.3, p. 261-273, 1997.
- TILAK, T.; VERMA, A. K.; WANKHADE, U. B. Effectiveness of diflubenzuron in the control of houseflies. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 47, n.2, p. 97–102, 2010.
- TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy Phytotherapy**. v.1, n.5, p. 52–63, 2009.
- TSAO, R.; YU, Q. Nematicidal activity of monoterpene compounds against economically important nematodes in agriculture. **Journal Essential Oil Research**. v. 12, n.3, p. 350-354, 2000.
- UMPIÉRREZ, M. L.; SANTOS, E.; GONZÁLEZ, A.; ROSSINI, C. Plant essential oils as potential control agents of varroaosis. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 227–244, 2011.
- UPADHYAY, R.K.; VERMA, R.S.; SJNGH, V.R.; BAHL, J.R.; SHARMA, S.K.; TEWARI, S.K. New agrotechnology for quality planting material production of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L. Herit.). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n.3, p. 128-130, 2016.
- WALISZEWSKI, S. M.; PARDIO SEDUS, V. T.; WALISZEWSKI, K. N. Detection of some organochlorine pesticides in cow's milk. **Food Additives & Contaminants**. v.13, n.2, p. 231–235, 1996.
- WALL, R. Ovine cutaneous myiasis: effects on production and control. **Veterinary Parasitology**, v.189, n.1 p. 44–51, 2012.
- WILLIAMS, D. G. **The Chemistry of Essential Oils**. Micelle Press, Weymouth, 1996.
- ZHANG, Y. Y.; ZHANG, W. J.; LIAO, X. J.; ZHANG, J. I.; HOU, Y. X.; XIAO ZY.; et al. Degradation of diazinon in apple juice by ultrasonic treatment. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.17, n.4, p. 662-668, 2010.