

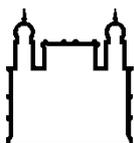
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica

BIOATIVIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE FRUTOS VERDES DE *Clusia lanceolata* C. E DE FOLHAS DE *Clusia paralicola* G. NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Musca domestica* (LINNAEUS, 1758) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Vítor dos Santos Baía Ferreira

Rio de Janeiro
Janeiro 2015



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica

VÍTOR DOS SANTOS BAÍA FERREIRA

BIOATIVIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE FRUTOS VERDES DE *Clusia lanceolata* C. E DE FOLHAS DE *Clusia paralicola* G. NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Musca domestica* (LINNAEUS, 1758) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Monografia apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de especialista em Entomologia Médica.

Orientadora: Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz

RIO DE JANEIRO

Janeiro 2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

F383 Ferreira, Vítor dos Santos Baía

Bioatividade de diferentes extratos de frutos verdes de *Clusia lanceolata* C. e de folhas de *Clusia paralicola* G. no desenvolvimento pós-embriônico de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) em condições de laboratório / Vítor dos Santos Baía Ferreira. – Rio de Janeiro, 2015.

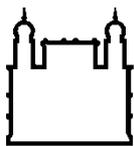
vii, 45 f. : il. ; 30 cm.

Monografia (Especialização) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Entomologia Médica, 2015.

Bibliografia: f. 38-45

1. Controle biológico. 2. Bioinseticida botânico. 3. Mosca doméstica.
4. Extrato de plantas. I. Título.

CDD 668.651



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica

VÍTOR DOS SANTOS BAÍA FERREIRA

BIOATIVIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE FRUTOS VERDES DE *Clusia lanceolata* C. E DE FOLHAS DE *Clusia paralicola* G. NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Musca domestica* (LINNAEUS, 1758) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

ORIENTADORA: Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Aprovada em: 30/01/2015

EXAMINADORES:

Presidente Dr. Rubens Pinto de Mello

Dra. Paloma Martins Mendonça

M.Sc. Carlos Manuel Dutok Sánchez

Rio de Janeiro, 30 de janeiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

À minha orientadora Margareth Queiroz, pelo suporte, incentivos e pela oportunidade.

Ao Professor Mário Geraldo de Carvalho e à doutoranda Rafaela Oliveira do curso de pós Graduação em Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelos extratos cedidos e à assistência e comunicação constante durante os experimentos.

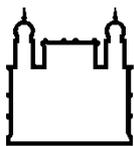
Aos amigos, pelo apoio, pelo incentivo e por todos os grandes momentos proporcionados.

Aos amigos e colegas de laboratório, pela assistência e companheirismo.

Ao curso de pós-graduação em Entomologia Médica e Acarologia, pela oportunidade e pelos ensinamentos.

À banca examinadora por ter aceitado o convite, pela atenção dispensada ao trabalho e pelas sugestões.

A todos que enriqueceram minha vivência nesse período e me assistiram, apoiaram ou me ajudaram de qualquer forma, meu muito obrigado!



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

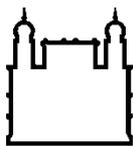
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica

BIOATIVIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE FRUTOS VERDES DE *Clusia lanceolata* C. E DE FOLHAS DE *Clusia paralicola* G. NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Musca domestica* (LINNAEUS 1758), EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

RESUMO

Musca domestica é um díptero que apresenta uma séria ameaça à saúde pública e ambiental. Essa espécie transmite diversos patógenos, é causadora de miíases em humanos e animais além de causarem prejuízos econômicos. Uma alternativa a ser utilizada no controle populacional desses insetos seriam extratos de plantas, que são menos agressivos ao ambiente do que os inseticidas químicos e os extratos de plantas da família Clusiaceae apresentam uma considerável atividade biológica para serem considerados como substâncias com potencial inseticida. *Clusia paralicola* e *Clusia lanceolata* tiveram diversos compostos químicos bioativos identificados em seus extratos, que foram testados para análise de seus efeitos sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *M. domestica*. O extrato em acetato de etila de frutos de *C. paralicola* (FCPAE) e o extrato metanólico de folhas de *C. lanceolata* (FCLM) reduziram consideravelmente a duração dos estágios larvais de desenvolvimento de *M. domestica* para 4,9 e 4,8 dias, respectivamente em comparação aos controles puro e DMSO, que tiveram duração de 5,6 e 5,5 dias, respectivamente. Nenhum extrato demonstrou ação inibidora de alimentação ou alterou significativamente a razão sexual. As concentrações mais elevadas de FCPAE e FCLM foram as que obtiveram a maior mortalidade corrigida, de 61,4 e 58%, respectivamente, caracterizando a ação inseticida desses compostos como satisfatória.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

BIOACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS OF *Clusia lanceolata* C. GREEN FRUITS AND *Clusia paralicola* G. LEAVES IN THE POST-EMBRIONARY DEVELOPMENT OF *Musca domestica* (LINNAEUS 1758), IN LABORATORY CONDITIONS

ABSTRACT

Musca domestica is a dipteran who presents a serious threat to public and environmental health. This species carries diseases and causes myiasis in humans and animals and may cause economic losses. An alternative to be used in the population control of these insects would be plant extracts, who are less harmful to the environment than chemical insecticides and, extracts form Clusiaceae family plants presents substantial biological activity to be considered as a potential insecticide substance. *Clusia paralicola* and *Clusia lanceolata* had several bioactive compounds identified in their extracts, who were tested to analyze their effects on the post embrionary development of *M. domestica*. The ethyl acetate extract form *C. paralicola* fruits (FCPAE) and methanol extract of *C. lanceolata* leaves (FCLM) substantially reduced the duration of larval stages in *M. domestica* to 4.9 and 4.8 days, respectively, comparing to pure and DMSO controls, which had 5.6 and 5.6 days duration, respectively. No extract showed feeding inhibition action or altered sex ratio. Higher tested concentrations for FCPAE and FCLM were the ones which obtained higher corrected mortalities of 61.4 and 58%, respectively, showing satisfactory insecticidal activity of this compounds.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivos Gerais.....	15
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. METODOLOGIA.....	16
3.1. Estabelecimento e manutenção da colônia de <i>Musca domestica</i>.....	16
3.2. Obtenção dos extratos.....	17
3.2.1. Extratos de folhas de <i>Clusia lanceolata</i>.....	17
3.2.2. Extratos de frutos de <i>Clusia paralicola</i>.....	17
3.3. Bioensaio.....	17
3.4. Análise dos dados.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1. Duração dos estágios de desenvolvimento.....	20
4.2. Peso pupal e razão sexual.....	26
4.3. Viabilidade dos grupos tratados e mortalidades dos tratamentos....	30
5. CONCLUSÕES.....	37
BIBLIOGRAFIA.....	38

1. INTRODUÇÃO

Musca domestica (Linnaeus 1758) (Figura 1) é um díptero pertencente à família Muscidae, que é caracterizada por ter de 6 a 7 mm de comprimento, tórax cinza-amarelado a cinza escuro com quatro listras escuras longitudinais estreitas no mesonoto e o abdome amarelado com uma listra mediana escura (Bennet 2006). O sexo dos indivíduos pode ser determinado pela distância entre os olhos, que nas fêmeas são dicópteros e nos machos, holópticos.

Essa espécie representa uma das mais importantes pragas urbanas de interesse médico-veterinário, pois os adultos têm hábitos endófilos e depois de visitarem ambientes contaminados, como resíduos de produção humana ou animal, frequentam ou entram em contato com materiais de consumo, atuando como vetores mecânicos de diversos patógenos (Greenberg 1971). Seu hábito alimentar envolve regurgitar sobre o alimento para poder sugá-lo pela probóscide, o que permite que os contaminantes presentes entrem em contato com seu aparelho digestor e partes corporais, carreando-os para outras fontes alimentares os diversos micro-organismos presentes (Malik et al. 2007).



Figura 1: *Musca domestica* (Fêmea).

Fonte: Diptera.info

Esses dípteros possuem ampla distribuição geográfica nas regiões de clima tropical e são quase sempre encontradas em grandes populações, pois seu desenvolvimento se favorece em regiões de clima quente e pelo fato de suas formas jovens se desenvolverem em diversos tipos de matéria orgânica em decomposição (Marchiori et al. 2000).

A capacidade de vetoração de patógenos por *M. domestica* é bem ampla e envolvem fungos, protozoários, ovos e larvas de helmintos, vírus e bactérias, que podem ser encontradas tanto na superfície de seu corpo como no trato digestório (Greenberg 1973). Fungos do gênero *Aspergillus* (Micheli 1729), causadores da aspergilose como *Aspergillus flavus* (Link 1809) já foram isolados em exemplares de *M. domestica* coletadas em lixões (Sales et al. 2002). Dos protozoários carreados, *Giardia lamblia* (Kunstler 1882), *Cryptosporidium* sp. (Tyzzer 1910), *Blastocystis hominis*, (Brumpt 1912), *Cyclospora cayetanensis* (Ortega, et al. 1994) são exemplos que já foram identificados em *M. domestica* (Cárdenaz e Martínez 2004), sendo *C. cayetanensis* um importante patógeno emergente causador de diarreia em humanos (Ortega e Sanchez 2010). Ao pousar em fezes de animais contaminados, pode carrear formas infectantes de helmintos (Sulaiman et al. 1988). *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus 1758), *Strongyloides stercoralis* (Bavay 1876), *Ancylostoma caninum* (Ercolani 1859) e *Toxocara canis* (Werner 1782) são exemplos de parasitas intestinais de humanos, encontrados em *M. domestica*, sendo que *S. stercoralis*, *A. caninum* e *T. canis*, foram encontrados tanto ovos como parasitos em formas larvais (Umeche e Mandah 1989). Os vírus carreados por *M. domestica* são patogênicos para animais de criação (Otake et al. 2004), animais selvagens (Barin et al. 2010) e humanos, incluindo cepas altamente patogênicas de vírus da gripe aviária (H5N1) (Sawabe et al. 2006). A fauna de bactérias de importância médica carreadas por esses dípteros também é abundante (Sukontason et al. 2000). Existem relatos da presença de diversos gêneros de bactérias patogênicas como *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter* presentes em moscas coletadas em mercados e fazendas de criação pecuária (Bidawidi et al. 1971; Nazni et al. 2005). Mitsuhiro et al. (1999) isolou a variação enterohemorrágica da espécie *Escherichia coli* (O157:H7) em uma fazenda de criação de gado no Japão. Em hospitais, Fotedar et al. (1992) isolou diversas espécies, incluindo *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, provavelmente de contato direto com feridas de pacientes ou material hospitalar contaminado. Existe nesses ambientes a

possibilidade de contato com bactérias patogênicas resistentes, como foi encontrado por Rahuma et al. (2005) que isolaram *Pseudomonas* spp. em moscas coletadas em hospitais, com resistência à diversos tipos de antibióticos.

M. domestica não atua somente como carreadora de patógenos, mas também tem potencial de causar diretamente males à saúde humana e animal. Suas formas larvais podem se alimentar de carne em decomposição e por consequência, foram registradas causando miíases secundárias em animais selvagens (Dehghani et al. 2012), na pele e no intestino de humanos (Ucan et al. 2011; Sehgal et al. 2002) e em associação com outros dípteros muscoides (Ferraz et al. 2010), além de servirem como carreadores dos ovos de dípteros causadores de miíases primárias como *Dermatobia hominis* (Linnaeus 1761) (Maia e Gomes 1988).

Quando encontradas em alta densidade populacional, podem gerar danos econômicos para a produção agrícola. São frequentemente associadas a áreas de produção pecuária e avícola e a perturbação causada pelas moscas afeta a produção de ovos em granjas, como também perturba os funcionários (Miller et al. 1993). O mesmo efeito também é observado em criações de gado para produção de leite (Malik et al. 2007).

A sua ampla distribuição geográfica, facilidade de adaptação a ambientes urbanizados, diversidade de hábitos alimentares, altos índices reprodutivos, capacidade vetorial, a possibilidade de causar miíases secundárias em humanos e animais, os problemas econômicos de seus efeitos em animais de criação e os incômodos causados conferem à espécie *M. domestica* uma posição importante nas preocupações com políticas de saúde pública (Polyakova 1999). Embora a sanitização e a higiene local sejam fatores primordiais para a redução de seus indivíduos, *M. domestica* representa um alvo importante para programas de controle populacional, onde medidas de manejo e uso de inseticidas têm como objetivo reduzir os danos causados por essa espécie (Crespo et al. 1998).

O uso de inseticidas é uma das principais técnicas utilizadas no controle de pragas e vetores e seu uso foi o que permitiu alguns dos principais avanços na agricultura e no controle de doenças como a malária, tifo e a febre amarela (van Emden e Peakall 1996). Em meados da década de 1940, surgiram os inseticidas químicos produzidos por síntese: os organoclorados. Entre alguns exemplos, podem ser citados hexacloreto de benzeno, metoxiclor, toxafene, carbaril e o DDT

(diclorodifeniltricloretano), que atuam no sistema nervoso dos insetos causando sua morte (Buss e Park-Brown 2006). Esses inseticidas continham diversas propriedades que os tornavam próprios para o uso em grande escala como baixo custo de produção, a longa ação residual e a toxicidade para um amplo espectro de pragas e vetores (Sethajintanin e Anderson 2006).

Os organoclorados foram utilizados indiscriminadamente por cerca de 30 anos por todo o mundo, até que a preocupação com a sua persistência no ambiente e sua toxicidade elevada causou a redução de seu uso e proibição do DDT na década de 70 (ATSDR 2002). Esses inseticidas sintéticos contaminavam a água, o solo e se impregnavam na vegetação, eram tóxicos a animais vertebrados e a insetos polinizadores (Aktar et al. 2009). O uso excessivo desses tipos de inseticidas também resultava em uma progressiva resistência das pragas a esses químicos, diminuindo sua efetividade e gerando consequências com potenciais negativos, como o aumento da frequência de uso, da dose e de misturas com compostos mais tóxicos (Hemingway e Ranson 2000).

Pela sua importância médico-sanitária, *M. domestica* é uma espécie que teve a sua resistência a inseticidas como alvo de diversos estudos. Farnham (1973) estudou a resistência de *M. domestica* a piretróides e Pimprikar e Georghiou (1979) descreveram os mecanismos que conferiam à essa espécie resistência ao diflubenzuron. Inseticidas que atuam diferentemente dos principais organoclorados também tinham sua eficácia reduzida, como Bloomcamp et al. (1987) constataram que a ciromazina, inseticida regulador do crescimento, não surtia efeito em populações de *M. domestica*. Há relatos inclusive de inseticidas químicos de última geração ao qual indivíduos de *M. domestica* também têm apresentado resistência adquirida, como a imidaclorapida (Wen e Scott 1999), Spinosad (Shono e Scott 2003) e Indoxacarb (Shono et al. 2004).

O desenvolvimento de resistência em várias espécies de pragas e vetores, com baixa especificidade, aliado ao impacto ambiental, elevada toxicidade para vertebrados e o alto custo e eficiência questionável dos inseticidas sintéticos de última geração, demonstraram que o controle de vetores com o uso exclusivo desse tipo de inseticida não garantiria sua eficiência. Como resposta a esses fatores limitantes, a OMS tem incentivado, nos últimos anos, a busca de novas estratégias de controle de insetos vetores de agentes etiológicos causadores de doenças humanas, dos animais domésticos e silvestres (Morner et al. 2002).

Uma opção para diminuir os efeitos negativos desses inseticidas químicos e garantir a sustentabilidade das práticas de controle populacional, seriam os bioinseticidas elaborados a partir de compostos naturais extraídos de plantas. Esses produtos naturais revelam mecanismos defensivos contra os insetos, que incluem os repelentes, inibidores da alimentação, hormônios e anti-hormônios que podem ser úteis à proteção de plantas agrícolas de pragas e controle de vetores causadores de doenças (Bowers 1984, Bell et al. 1990). Esses inseticidas possuem diversas vantagens em sua aplicação e utilização como alta volatilidade e rápida degradação, ação quase imediata, baixa toxicidade em mamíferos, baixa fitotoxicidade e alta seletividade (Cloyd 2004).

Essas substâncias são oriundas do metabolismo secundário de plantas e resultam da própria defesa bioquímica desses organismos contra esses insetos (Kim et al. 2003). Rattan (2010) cita diversas classes de químicos com atividades inseticidas e diferentes fontes botânicas, como a nicotina, a azadiractina, o timol, silfenenos, rianodinas, sabadilhas e a piretrina. Destes, vários compostos já tiveram sua eficácia testada e comprovada na mosca doméstica (Pohlit et al. 2011) e diversos inseticidas comerciais já foram elaborados e têm tido seu uso aumentado no passar dos anos, como por exemplo, o óleo de Nim, extraído de *Melia azedarach* L. que é considerada uma das plantas com atividade inseticida mais importante (Brunherotto e Vendramim 2001). Essas substâncias apresentam uma variada gama de atividades biológicas nesses insetos assim como atividade sinergista (Bell et al. 1990) como a azadiractina que apresenta efeitos endócrinos, tóxicos (Mordue e Blackell 1993) e inibidores de alimentação (Dethier 1982), os rianóides, que causam paralisia imediatamente após a aplicação (Fill e Coronado 1988) e as sabadilhas, que matam por perdas das funções nervosas (Cloyd 2004).

Algumas propriedades que conferem vantagem aos inseticidas extraídos de plantas sobre inseticidas químicos, também oferecem desvantagens com relação direta ao seu uso, como descrito por Cloyd (2004). O autor cita a rápida degradação, o que exige que se façam múltiplas aplicações, aumentando os custos financeiros, a toxicidade para alguns organismos não alvo, como peixes e plantas, disponibilidade comercial de alguns inseticidas, tornando alguns desses químicos raros e com custo elevado, variabilidade dos compostos bioativos nas espécies de plantas, tanto na variedade quanto na quantidade e os dados insipientes de pesquisa sobre seus efeitos.

O uso de extratos crus (e. g. óleos essenciais, extratos etanólicos, metanólicos, etc.) apresentam uma ação diferenciada quando comparados às substâncias isoladas,

além de possuírem ação mais específica, minimizando o risco de atingir organismos não alvos. (Buss e Park-Brown 2002; Rattan 2010). Esses extratos também apresentam a vantagem de possuírem ação sinérgica de seus compostos e também oferecem vantagens em relação à mecanismos de resistência (Saito 2004; Pavela 2008) o que poderia ser uma solução ao fato de *M. domestica* já ter tido a resistência à compostos naturais (e.g. piretrina) relatada (Farnham 1973).

Deve-se utilizar os inseticidas de produtos naturais com as mesmas precauções que são utilizados os inseticidas químicos, pois devido à sua toxicidade e abrangência dos efeitos, seu uso indiscriminado também pode trazer complicações ao ecossistema, já que seus efeitos dependem diretamente da forma como são empregados (Corrêa e Salgado 2011).

Para suprir a necessidade de conhecimento sobre esses compostos, diversos os estudos realizados com bioinseticidas de origem vegetal visam relatar a atividade biológica que esses extratos causam em insetos de importância econômica e de saúde pública, assim como é necessário caracterizar e quantificar os componentes químicos presentes nesses compostos e sua atuação nesses organismos (Corrêa e Salgado 2011).

A família Clusiaceae possui cerca de 37 gêneros e 1610 espécies distribuídos pela região tropical de acordo com Gustafsson et al. (2002). O mesmo autor descreve que a família apresenta grande variedade de formas florais e polinização, com predominância de espécies arbóreas e arbustivas e que quase todas as espécies produzem diferentes tipos de látex e resinas nos seus tecidos.

Dentro da família Clusiaceae se encontra o gênero-tipo *Clusia* L. com cerca de 250 espécies encontradas na região tropical das Américas e possui grande variedade fenotípica (de Oliveira et al. 1996). Os compostos químicos extraídos de plantas desse gênero possuem expressiva atividade biológica como exemplo, as benzofenonas inibidoras de HIV (Gustafson et al. 1992), benzofenonas herbicidas (Koo et al. 1997) e extratos com atividade antimicrobiana e citotóxica para células cancerígenas (Pretto et al. 2004; Suffredini et al. 2006).

A espécie *Clusia lanceolata* C. é uma espécie endêmica do Estado do Rio de Janeiro (Brasil), presente principalmente em áreas de restinga (Constantino et al. 2009). A análise de extratos dessa planta comprovou que ela possui as substâncias bioativas características de seu gênero como benzofenonas utilizadas em medicina homeopática (de Oliveira et al. 1999), além de flavonas, feofitinas e esteroides (Ferreira et al. 2013).

Clusia paralicola G. é uma planta encontrada no nordeste brasileiro, sendo endêmica dessa região (Alcoforado-Filho et al. 2003). Popularmente conhecida como pororoca, é caracterizada por ter flores grandes e chamativas que produzem resinas que atraem abelhas e vespas e possuem atividade biológica e utilização na medicina homeopática (Lokvam et al. 2000). Foram identificados em extratos de *C. paralicola* químicos das classes das benzofenonas, fenilpropanóides, esteroides, triterpenos, catequinas e dos flavonoides (Oliveira et al. 2011; Oliveira et al. 2012). No grupo das benzofenonas, Oliveira (2011) fez um levantamento de 28 compostos diferentes presentes em plantas do gênero *Clusia* e identificou na bibliografia a presença de pelo menos 5 compostos presentes em *C. lanceolata* e *C. paralicola*.

A elevada presença de compostos bioativos presentes, em conjunto com compostos que possuem potencial inseticida já descritos (Boger et al. 2001; Upasani et al. 2003), tornam importante o estudo da bioatividade dos extratos dessas plantas como potencial ferramenta no controle alternativo de espécies sinantrópicas transmissoras de patógenos e causadora de doenças como *M. domestica*, ainda relevando o fato dessa espécie de díptero possuir resistência à diversos compostos utilizados para esse fim. Esse estudo objetiva avaliar os efeitos no desenvolvimento pós-embrionário de *M. domestica* causadas pelos diferentes tipos de extratos de folhas de *C. lanceolata* e frutos de *C. paralicola*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade biológica dos extratos etanólicos e em acetato de etila de frutos maduros de *C. paralicola* e os extratos metanólicos e em acetato de etila de folhas de *C. lanceolata* no desenvolvimento pós-embrionário de *M. domestica*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos dos diferentes extratos de frutos de *C. paralicola* e folhas de *C. lanceolata* no peso das pupas de *M. domestica*
- Avaliar os efeitos dos diferentes extratos de frutos de *C. paralicola* e folhas de *C. lanceolata* na duração dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal, neolarva a adulto) de *M. domestica*.
- Avaliar os efeitos dos diferentes extratos de frutos de *C. paralicola* e folhas de *C. lanceolata* na razão sexual de larvas de *M. domestica*.
- Avaliar a viabilidade dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal, neolarva a adulto) de *M. domestica* tratada com diferentes extratos de frutos de *C. paralicola* e folhas de *C. lanceolata* e comparar a mortalidade dos tratamentos.

3. METODOLOGIA

3.1. Estabelecimento e manutenção da colônia de *Musca domestica*:

A criação de dípteros muscóides foi estabelecida a partir de adultos coletados numa caçamba de lixo encontrada no Bairro do Amorim (Rio de Janeiro, RJ), próximo ao campus da Fiocruz (Rio de Janeiro, RJ). O estabelecimento e manutenção das criações seguiram a metodologia preconizada por Queiroz e Milward-de-Azevedo (1991), que consiste na manutenção dos adultos em gaiolas de madeira de 30x30x30 cm (Figura 2) com alimentação à base de água provida em garrafas com um pavio feito de gaze e sacarose (Figura 3), oferecida na forma de açúcar refinado. Os dípteros utilizados foram provenientes de novas colônias, feitas a partir da primeira geração dos adultos coletados. Para substrato de postura e maturação das fêmeas, foi oferecida uma mistura de carne bovina moída putrefata e farelo de trigo (5g de carne/1g de farelo).



Figura 2: Gaiola de madeira onde os adultos eram mantidos



Figura 3: Dieta dos adultos: água e sacarose, respectivamente.

3.2. Obtenção dos extratos:

Os extratos foram obtidos através de amostras cedidas pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais (DQ-ICE-UFRRJ,) e seguiram as seguintes metodologias:

3.2.1. Extrato de folhas de *Clusia lanceolata*:

Folhas frescas foram coletadas em Grumari-RJ na área de restinga e foram submetidas à extração com diclorometano e metanol. O extrato em metanol foi dissolvido numa solução aquosa de metanol (70%) e particionado em acetato de etila (Ferreira et al. 2013).

3.2.2. Extrato de frutos de *Clusia paralicola*

Frutos maduros foram coletados na cidade de Santa Rita-PB na área de restinga e foram submetidos à extração sucessiva com etanol. O extrato em etanol foi então submetido à partição em acetato de etila (Oliveira et al. 2012).

3.3. Bioensaio

Os extratos das folhas de *C. lanceolata* e dos frutos de *C. paralicola* foram dissolvidos em dimetil-sulfóxido (DMSO), que foi escolhido por ser um solvente

orgânico que facilita o carreamento de substâncias orgânicas através da membrana celular (Cardoso 2011). Inicialmente foi feita uma solução matriz na proporção de 1mg/mL que posteriormente, foi diluída para as concentrações 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL, sendo a aplicação feita imediatamente após a diluição. Cada concentração foi aplicada topicamente sobre as larvas recém-eclodidas (Figura 4), mantendo a relação de 1 μ L por larva. Foram utilizadas cinco réplicas para cada tratamento, tendo dois grupos controle, onde um foi aplicado o DMSO puro (1 μ L/larva) e no outro, nada foi aplicado. Após a aplicação as larvas foram transferidas para um recipiente contendo 50g de dieta e este recipiente foi acondicionado dentro de um recipiente maior, contendo vermiculita como substrato de pupação. Estes foram cobertos por tecido de náilon (escaline) preso por elástico.

Em todos os tratamentos, as pupas foram coletadas, pesadas em balança de precisão e acondicionadas individualmente em tubos de ensaio, contendo até $\frac{1}{4}$ de seu volume de vermiculita e tampados com escaline, para pupação e nesse momento foi calculada a viabilidade larval. No momento da emergência dos adultos foi calculada a viabilidade pupal e em conjunto, a viabilidade de neolarva a adulto (Figura 9). Os insetos foram observados quanto à viabilidade do desenvolvimento das fases de larva, pupa e neolarva a adulto, duração de cada fase e razão sexual.

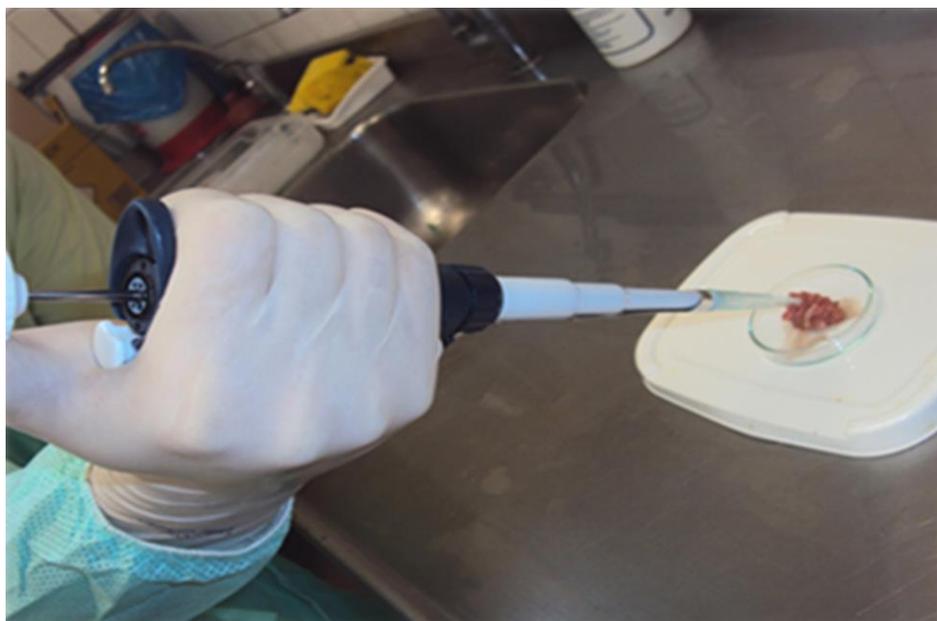


Figura 4: Aplicação tópica das soluções.

Todas as fases experimentais foram observadas e controladas diariamente até a emergência do adulto. Todos os experimentos foram realizados em condições de laboratório, em estante ventilada (Figura 5) regulada a 25 ± 1 °C, $60 \pm 10\%$ URA e fotoperíodo de 12 horas.



Figura 5: Estante ventilada utilizada no experimento.

3.4. Análise dos dados:

Os resultados foram analisados através da análise de variância (ANOVA: $P \leq 0,05$) (Sokal e Rohlf 1979), o teste de Tukey-Kramer foi utilizado para a análise da significância estatística e o desvio padrão foi calculado através da média dos experimentos. O programa Graphpad® Instat foi utilizado na realização dos cálculos estatísticos. A viabilidade do estágio larval foi contabilizada pelas larvas que se tornaram pupas, a viabilidade pupal foi contabilizada através das pupas que se tornaram adultos e a viabilidade de neolarva a adulto foi contabilizada pelas larvas que se tornaram adultos. A mortalidade foi calculada através da inversão da viabilidade e corrigida através da fórmula de correção de Abbott (Abbott 1925).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Duração dos estágios de desenvolvimento

O efeito do tratamento com extrato etanólico de frutos maduros de *C. paralicola* (FCPE) nos estágios de desenvolvimento pode ser visualizado na tabela 1. Todos os tratamentos diferenciaram do controle puro, porém só as concentrações de 0,1 e 0,3mg/mL diferenciaram do controle DMSO, sendo que todos os tratamentos tiveram períodos larvais mais curtos. A duração do estágio pupal foi maior que os controles em todos os grupos tratados em cerca de 1 dia se comparado ao controle puro e 0,5 dia se comparado ao controle DMSO. O desenvolvimento de neolarva a adulto não diferenciou do controle em nenhuma das concentrações testadas.

Tabela I: Duração dos estágios de desenvolvimento pós-embriônico da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), em média de dias, tratada com extrato em etanol de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Estágio Larval	Estágio Pupal	Estágio Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	5,6 ± 0,9 a	5,5 ± 0,6 a	12,2 ± 0,9 a
Controle DMSO	5,5 ± 1,1 ac	6 ± 0,7 b	12,5 ± 1,6 a
FCPE 0,1 mg/mL	4,7 ± 1 b	6,5 ± 0,6 c	12,1 ± 0,9 a
FCPE 0,3 mg/mL	4,9 ± 1,2 bc	6,6 ± 0,7 c	12,4 ± 0,8 a
FCPE 0,5 mg/mL	5,1 ± 0,9 c	6,3 ± 0,6 d	12,4 ± 0,6 a

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

O extrato em acetato de etila dos frutos de *C. paralicola* (FCPAE) causou variação em todos os estágios de desenvolvimento de *M. domestica* (Tabela 2). O período larval teve uma duração menor em todos os tratamentos testados (4,1 dias para as concentrações 0,1 e 0,5 mg/mL e 4,2 dias para 0,3 mg/mL) mas as diferentes concentrações não diferenciaram entre si. O período pupal nos grupos tratados com FCPAE foi mais longo que o controle puro (5,5 dias), porém mais curto que o controle DMSO (6 dias) e as diferentes concentrações não diferenciaram entre si. No período de neolarva a adulto, todas as concentrações tiveram duração reduzida (0,1 mg/mL = 10,0 dias; 0,3 mg/mL = 10,1 dias; 0,5 mg/mL = 10,1 dias) se comparadas aos controles (puro = 12,2 dias; DMSO = 12,5 dias), que não diferenciaram entre si.

Tabela II: Duração dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), em média de dias, tratada com extrato em acetato de etila de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Estágio Larval	Estágio Pupal	Estágio Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	5,6 ± 0,9 a	5,5 ± 0,6 a	12,2 ± 0,9 a
Controle DMSO	5,5 ± 1,1 a	6 ± 0,7 b	12,5 ± 1,6 a
FCPAE 0,1 mg/mL	4,1 ± 0,5 b	5 ± 0,4 c	10,0 ± 0,3 b
FCPAE 0,3 mg/mL	4,2 ± 0,4 b	4,9 ± 0,3 c	10,1 ± 0,4 b
FCPAE 0,5 mg/mL	4,1 ± 0,3 b	4,9 ± 0,2 c	10,1 ± 0,4 b

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

As alterações causadas pelo extrato metanólico de folhas de *C. lanceolata* (FCLM) na duração dos estágios de desenvolvimento de *M. domestica* pode ser visualizada na tabela 3. O desenvolvimento larval foi mais curto em todas as concentrações de FCLM testadas, com uma redução média de dois dias, se comparadas aos controles. A duração do estágio pupal também sofreu alterações, sendo reduzida em todas as concentrações testadas, sendo as duas maiores concentrações (0,3 mg/mL e 0,5

mg/mL) as que tiveram a diferença mais significativa. O estágio de neolarva a adulto foi reduzido em aproximadamente 2 dias em todas as concentrações testadas se comparadas aos controles, no entanto, as diferentes concentrações não se diferenciaram estatisticamente.

Tabela III: Duração dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), em média de dias, tratada com extrato em metanol de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLM) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Estágio Larval	Estágio Pupal	Estágio Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	5,6 ± 0,9 a	5,5 ± 0,6 a	12,2 ± 0,9 a
Controle DMSO	5,5 ± 1,1 a	6 ± 0,7 b	12,5 ± 1,6 a
FCLM 0,1 mg/mL	4,3 ± 0,7 b	5,2 ± 0,6 c	10,3 ± 1 b
FCLM 0,3 mg/mL	4,2 ± 0,4 b	4,8 ± 0,5 d	10,1 ± 0,5 b
FCLM 0,5 mg/mL	4,3 ± 0,4 b	4,8 ± 0,5 d	10 ± 0,4 b

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

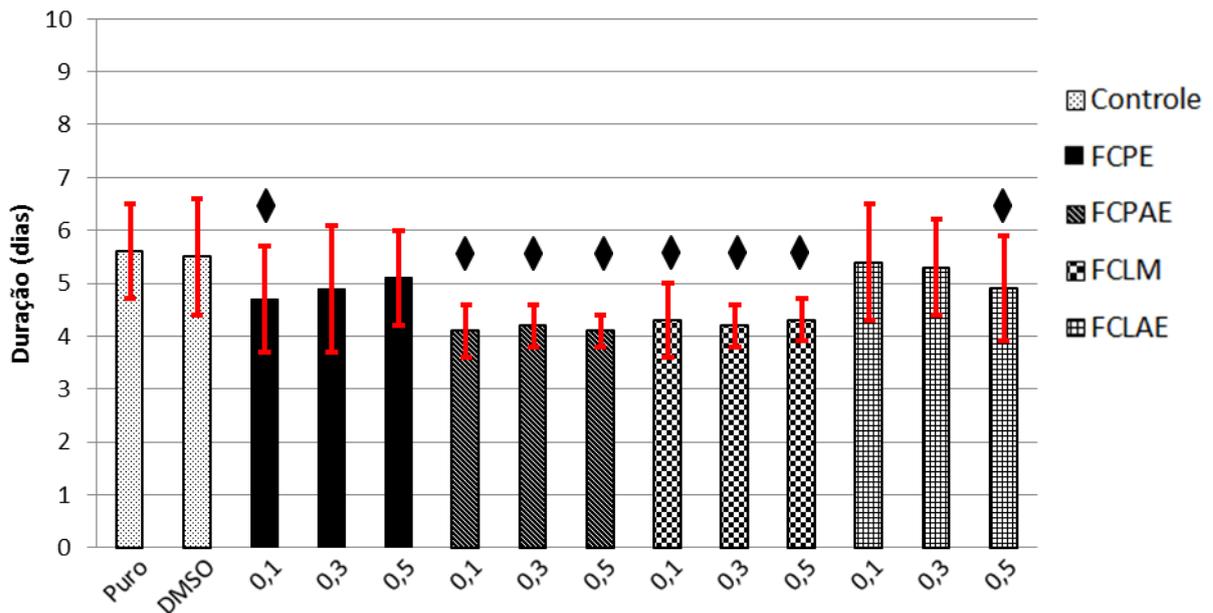
O tratamento com extrato de acetato de etila de folhas de *C. lanceolata* (FCLAE) só causou diferenças no desenvolvimento larval na maior concentração testada, quando comparada aos controles (Tabela 4). O mesmo é observado para o desenvolvimento pupal (Tabela 4), porém os grupos controles puro e DMSO também diferenciaram entre si e nas concentrações testadas, somente a mais elevada (0,5 mg/mL) se diferenciou significativamente. O desenvolvimento de neolarva a adulto de *M. domestica* não foi alterado significativamente por nenhuma concentração de FCLAE testada, porém a menor concentração (0,1 mg/mL) se diferenciou do controle puro gerando uma duração levemente mais elevada (12,6 dias).

Tabela IV: Duração dos estágios de desenvolvimento pós-embrionário da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), em média de dias, tratada com extrato em acetato de etila de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Estágio Larval	Estágio Pupal	Estágio Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	5,6 ± 0,9 a	5,5 ± 0,6 a	12,2 ± 0,9 a
Controle DMSO	5,5 ± 1,1 a	6 ± 0,7 b	12,5 ± 1,6 ab
FCLAE 0,1 mg/mL	5,4 ± 1,1 a	6,1 ± 0,8 b	12,5 ± 0,6 ab
FCLAE 0,3 mg/mL	5,3 ± 0,9 a	6,2 ± 0,6 b	12,6 ± 0,6 b
FCLAE 0,5 mg/mL	4,9 ± 1 b	6,4 ± 0,7 c	12,4 ± 0,5 ab

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

Em experimento realizado por Freitas (2008), a atividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L. e *M. azedarach* em *M. domestica* foi encontrada diferença na duração do período larval na maior concentração do extrato de *Eucalyptus* (10%) e nas duas concentrações testadas de extrato de *M. azedarach* (5 e 10%), tendo em todos os casos, aumento na sua duração, ao contrário do que pode ser visto na figura 6, onde todos extratos testados diminuiram a duração do período larval. Cabral et al. (2008) testou a mesma substância em *M. domestica* mas só encontrou diferença significativa nas larvas tratadas com extrato em n-hexano de *M. azedarach* ([]= 100 µg/µL, 6.72 ± 0.81 dias). Em outras espécies de dípteros muscóides, os extratos vegetais também causaram modificações no período larval, como demonstrado por Mendonça (2011) que testou o látex do amapazeiro *Parahancornia amapa* (H.) D. em *Chrysomya megacephala* (Fabricius 1794) (Diptera: Calliphoridae) que teve o período larval acelerado na



concentração 1,0%. Carriço et al. (2014) testou extrato de folhas de *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore e Stearn em *Chrysomya putoria* (Wiedemann 1818) (Diptera: Calliphoridae) e notou que o extrato acelerou o desenvolvimento larval em todas as concentrações testadas, corroborando com os resultados encontrados.

Figura 6: Comparação da duração do estágio larval da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

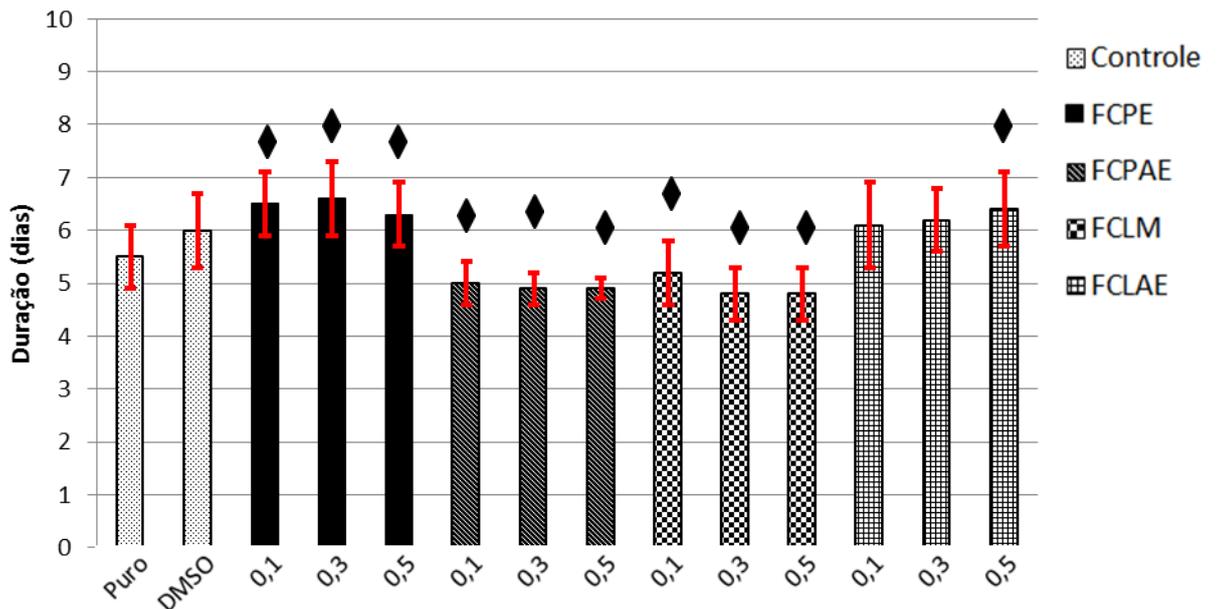


Figura 7: Comparação da duração do estágio pupal da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO) em média de dias, em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

Ao se observar a ação dos extratos no período pupal (Figura 7) observa-se uma variação sobre os efeitos causados na duração desse estágio, com FCPAE e FCLM causando uma redução na sua duração em todas as concentrações e FCPE e FCLAE causando aumento, mesmo que não significativo, mostrando uma variância nas respostas aos extratos não só à espécie da planta, como também no tipo de extrato. A mesma resposta não foi observada por Cabral et al. (2008) onde diferentes extratos de *M. azedarach* causaram redução da duração do estágio pupal em *M. domestica*.

Ao se comparar o desenvolvimento de neolarva a adulto (Figura 8) nota-se que somente os extratos FCPAE e FCLM alteraram significativamente a duração desse estágio com todas as concentrações reduzindo sua duração. Esse resultado diferencia do encontrado por Cabral et al. (2008) onde os diferentes extratos de *M. azedarach* aumentaram o tempo de duração desse estágio (Controle: 12,08 dias; Extrato A: 12,25 dias; Extrato B 12,35 dias; Extrato C: 12,36 dias; Extrato D: 12,59 dias). O mesmo aumento foi encontrado por Freitas (2008) utilizando os extratos de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach* nas menores concentrações testadas (5%), mas nas maiores concentrações (10%), os dois extratos apresentaram a mesma aceleração no desenvolvimento.

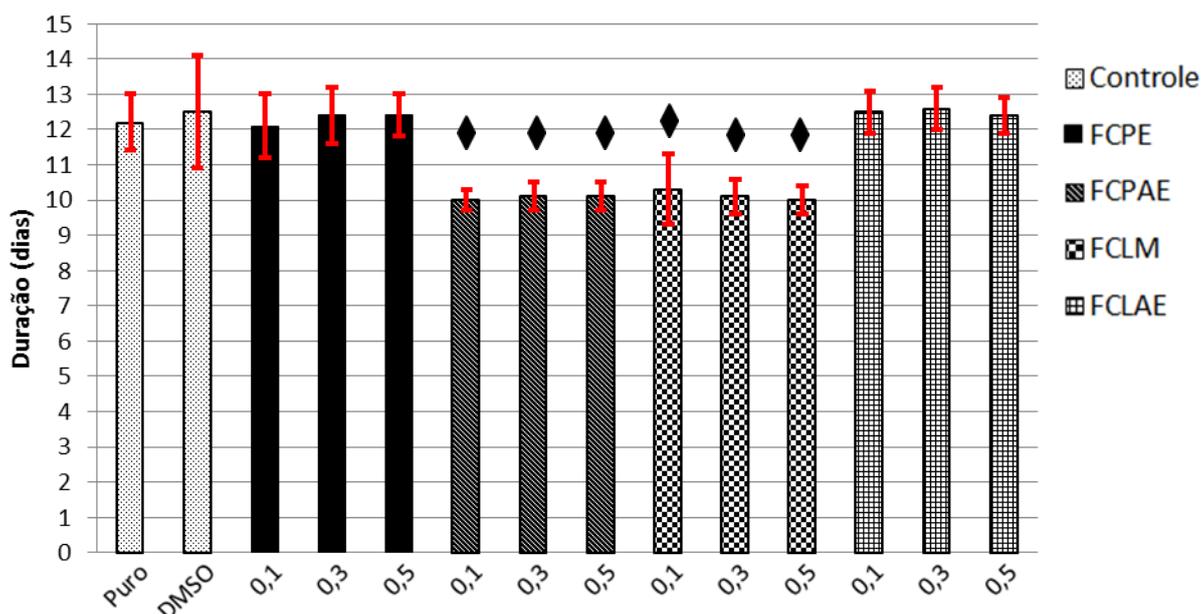


Figura 8: Comparação da duração do estágio de neolarva a adulto da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO) em média de dias, em condições de laboratório. Colunas com “◆” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

4.2. Peso pupal e razão sexual

O tratamento FCPE gerou pupas significativamente mais pesadas em todas as concentrações testadas quando comparadas ao grupo controle como mostra a tabela 5. A razão sexual não foi alterada significativamente por nenhuma concentração utilizada no experimento (tabela 5) e se manteve bem próxima a 0,5 em todos os tratamentos e controles.

Tabela V: Peso das pupas em miligramas (mg) e razão sexual da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), tratada com extrato em etanol de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Peso Pupal	Razão Sexual
	Média ± DP	
Controle Puro	23,6 ± 1,5 a	0,51
Controle DMSO	24,2 ± 2,9 a	0,49
FCPE 0,1 mg/mL	25,4 ± 1,2 bc	0,52
FCPE 0,3 mg/mL	25,9 ± 1,7 b	0,49

0,3 mg/mL		
FCPE		
0,5 mg/mL	25 ± 1,8 c	0,55

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

O tratamento FCPAE teve as pupas tratadas na concentração 0,5 mg/mL com um peso significativamente menor que o controle DMSO, no entanto, não diferenciou significativamente do controle puro o que pode indicar que a ação inibidora de alimentação visualizada possa ser acidental (tabela 6). Esse tratamento também não causou nenhuma diferenciação significativa na razão sexual em nenhuma das concentrações testadas, como mostra a tabela 6.

Tabela VI: Peso das pupas em miligramas (mg) e razão sexual da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), tratada com extrato em acetato de etila de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Peso Pupal	Razão Sexual
	Média ± DP	
Controle Puro	23,6 ± 1,5 ab	0,51
Controle DMSO	24,2 ± 2,9 a	0,49
FCPAE 0,1 mg/mL	23,6 ± 2 ab	0,51
FCPAE 0,3 mg/mL	23,7 ± 1,9 ab	0,5
FCPAE 0,5 mg/mL	23,1 ± 1,7 b	0,52

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

O tratamento FCLM gerou pupas significativamente mais leves nas concentrações 0,1 e 0,5 mg/mL como pode ser observado na tabela 7. A concentração mais elevada gerou pupas mais leves que as outras concentrações, o que indicaria uma

possível ação inibidora de alimentação crescente conforme a concentração, porém a concentração intermediária (0,3 mg/mL) não causou nenhuma alteração significativa no peso das pupas. Como nos tratamentos feitos com frutos de *C. lanceolata*, não houve alteração significativa na razão sexual.

O tratamento FCLAE teve respostas variadas no que se refere ao peso pupal (Tabela 8), mas nenhuma concentração diferenciou significativamente dos dois controles. A concentração menos elevada (0,1 mg/mL) foi a que gerou pupas mais leves, o que pode indicar que a ação inibidora de alimentação foi acidental. Assim como os tratamentos anteriores, não foi registrada nenhuma alteração significativa na razão sexual em nenhuma concentração testada.

Tabela VII: Peso das pupas em miligramas (mg) e razão sexual da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), tratada com extrato em metanol de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLM) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Peso Pupal	Razão Sexual
	Média ± DP	
Controle Puro	23,6 ± 1,5 a	0,51
Controle DMSO	24,2 ± 2,9 a	0,49
FCLM 0,1 mg/mL	23,1 ± 1,5 b	0,5
FCLM 0,3 mg/mL	24 ± 1,4 a	0,48
FCLM 0,5 mg/mL	22,4 ± 2,1 c	0,49

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

Tabela VIII: Peso das pupas em miligramas (mg) e razão sexual da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae), tratada com extrato em

acetato de etila de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Peso Pupal	Razão Sexual
	Média ± DP	
Controle Puro	23,6 ± 1,5 ab	0,51
Controle DMSO	24,2 ± 2,9 ac	0,49
FCLAE 0,1 mg/mL	23,2 ± 1,5 b	0,48
FCLAE 0,3 mg/mL	23,7 ± 1,4 ab	0,5
FCLAE 0,5 mg/mL	24,1 ± 2,1 ac	0,49

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

Ao fazer a comparação do efeito sobre o peso pupal de todos os extratos testados com os controles (Figura 9), pode-se observar que os tratamentos não obtiveram efeitos expressivos na alimentação das larvas, o que também foi observado por Freitas (2008) com os extratos de *Eucalyptus* sp. em *M. domestica*, não observando variação significativa em nenhuma das concentrações testadas. A mesmo autor encontrou variações significativas com os extratos aquosos de *M. azedarach* nessa espécie, gerando pupas significativamente mais leves (controle: 20mg; 5%: 17mg; 10%: 16mg), corroborando com o resultado encontrado por Cabral (2008) onde diferentes extratos de *M. azedarach* também geraram pupas de *M. domestica* mais leves (Controle: 22,10mg; A: 20,17mg; B :20,88mg; C: 21,52mg; D: 20,41mg).

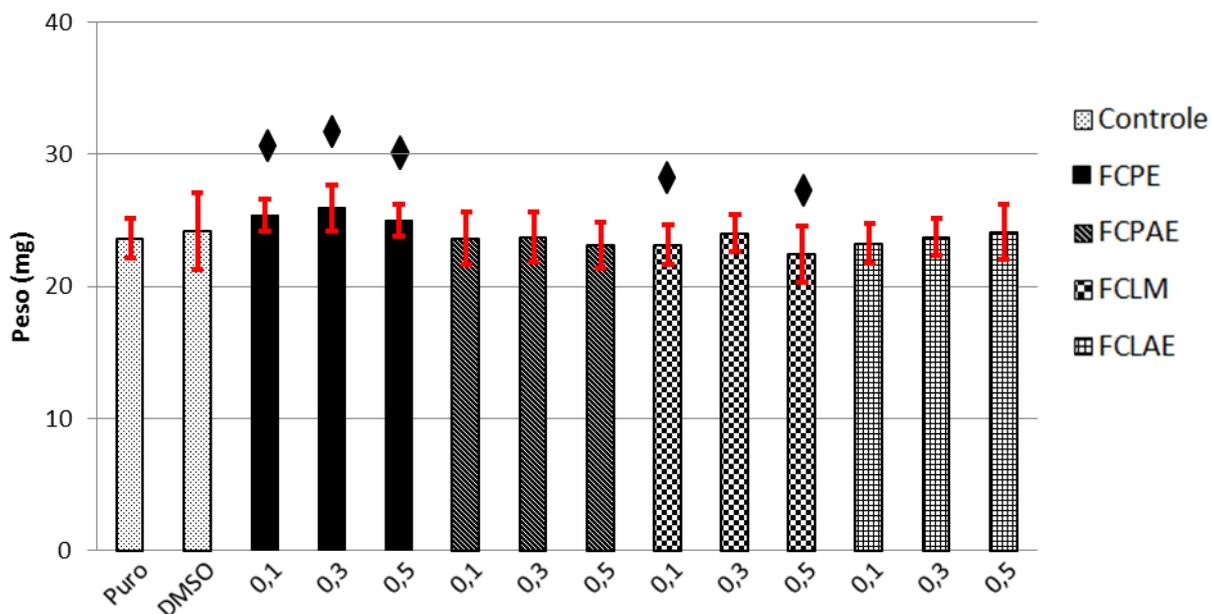


Figura 9: Comparação dos pesos das pupas da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) em miligramas (mg) tratadas com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

Nenhum dos extratos testados causou diferença significativa na razão sexual de *M. domestica* (Figura 10), o que também foi observado por Freitas (2008) com extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach*. Contradizendo os resultados encontrados e os de Freitas (2008), Cabral (2008) encontrou variação na razão sexual de *M. domestica* tratada com a fração metanólica do extrato cru de *M. azedarach* (Controle: 0,44; Extrato D: 0,38), assim como Gomes et al. (2007) que observou variação significativa na razão sexual de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann 1830) (Diptera: Sarcophagidae) tratada com látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. na menor concentração utilizada (Controle:0,48; 0,1%: 0,36).

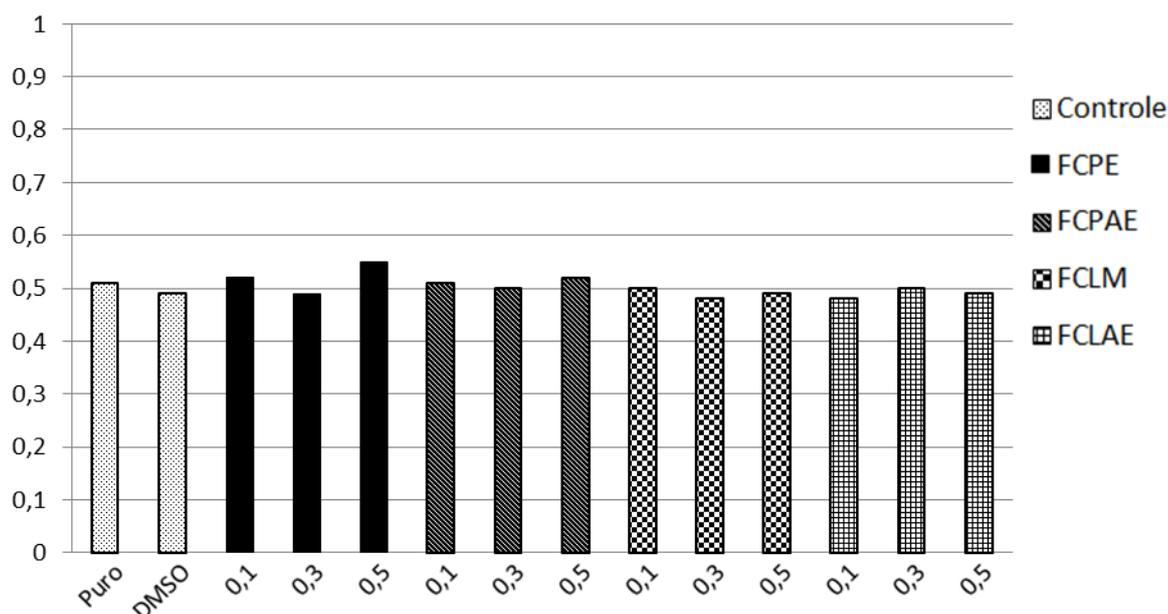


Figura 10: Razão sexual da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

4.3. Viabilidade dos grupos tratados e mortalidade dos tratamentos

O tratamento FCPE não teve nenhuma concentração onde a viabilidade das larvas tratadas tenha diferenciado dos dois controles (Tabela 9). Tanto na viabilidade larval como na de neolarva a adulto, diversas concentrações tiveram a sua viabilidade melhor do que o grupo controle, embora não necessariamente, tenham diferenciado estatisticamente quando comparadas, demonstrando pouca atividade letal do extrato em *M. domestica*. A viabilidade pupal sofreu variações em todas as concentrações, porém nenhuma concentração diferenciou estatisticamente dos dois controles simultaneamente (Tabela 9).

Tabela IX: Viabilidade dos estágios de desenvolvimento da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) em %, tratada com extrato em etanol de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Viabilidade Larval	Viabilidade Pupal	Viabilidade Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	91,3 ± 2,9 abcde	94,9 ± 2,1 ab	86,6 ± 0,8 ab
Controle DMSO	84,6 ± 3,5 be	94,3 ± 4,4 ab	80 ± 6,1 a
FCPE 0,1 mg/mL	92,6 ± 4,9 cd	89,9 ± 3,2 a	83,3 ± 5,3 ab
FCPE 0,3 mg/mL	94,6 ± 2,9 d	95,7 ± 3,9 ab	90,6 ± 4,5 b
FCPE 0,5 mg/mL	84,6 ± 3,2 e	96,7 ± 2,7 b	82 ± 5 ab

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

O extrato FCLAE causou uma diferenciação significativa na viabilidade larval de *M. domestica* em todas as concentrações testadas (Tabela 10), a concentração de 0,5 mg/mL foi a que causou a menor viabilidade (42%) enquanto a viabilidade pupal não sofreu alteração significativa em nenhuma das concentrações avaliadas. A viabilidade de neolarva a adulto acompanhou a tendência da viabilidade larval e também diferenciou significativamente dos controles em todas as concentrações testadas, aumentando conforme a concentração. A concentração 0,5 mg/mL foi novamente, a que obteve a menor viabilidade (38,6%).

Tabela X: Viabilidade dos estágios de desenvolvimento da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) em %, tratada com extrato em acetato de etila de frutos maduros de *Clusia paralicola* G. (Clusiaceae) (FCPAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Viabilidade Larval	Viabilidade Pupal	Viabilidade Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	91,3 ± 2,9 a	94,9 ± 2,1 a	86,6 ± 0,8 a
Controle DMSO	84,6 ± 3,5 a	94,3 ± 4,4 ab	80 ± 6,1 a
FCPAE	61,3 ± 9,1 b	92,6 ± 4,5 ab	60 ± 11,5 b

0,1 mg/mL FCPAE	50 ± 7 bc	83,4 ± 7,5 b	41,3 ± 8,9 c
0,3 mg/mL FCPAE	42 ± 7,4 c	93,3 ± 8,1 ab	38,6 ± 5,7 c

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

O tratamento FCLM obteve uma viabilidade significativamente menor que a dos dois controles, porém não foram observadas variações significativas entre as variações, como pode ser observado na tabela 11. A viabilidade pupal sofreu poucas alterações nos grupos testados, com exceção da concentração 0,5 mg/mL que diminuiu significativamente a viabilidade pupal de *M. domestica*. A viabilidade de neolarva a adulto, mantém a tendência da viabilidade larval, porém com a baixa viabilidade do estágio pupal apresentada pela concentração 0,5 mg/mL, esta diferencia estatisticamente das outras concentrações, apresentando a viabilidade mais baixa entre os grupos tratados (42%).

FCLAE só diferenciou dos dois controles simultaneamente na viabilidade larval na sua concentração mais elevada (0,5 mg/mL), como mostra a tabela 12. Na viabilidade de neolarva a adulto todos os tratamentos se diferenciaram estatisticamente do controle puro, com destaque para a concentração mais elevada que apresenta a menor viabilidade e se diferencia dos dois controles simultaneamente (0,5 mg/mL: 65,3%).

Tabela XI: Viabilidade dos estágios de desenvolvimento da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) em %, tratada com extrato em metanol de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLM) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Viabilidade Larval	Viabilidade Pupal	Viabilidade Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	91,3 ± 2,9 a	94,9 ± 2,1 a	86,6 ± 0,8 a

Controle DMSO	84,6 ± 3,5 a	94,3 ± 4,4 a	80 ± 6,1 a
FCLM 0,1 mg/mL	60 ± 7,3 b	90,3 ± 9,4 a	53,3 ± 0,8 b
FCLM 0,3 mg/mL	57,3 ± 7,3 b	96,7 ± 2,3 a	55,3 ± 6,3 b
FCLM 0,5 mg/mL	54 ± 3,7 b	78,2 ± 5,2 b	42 ± 1,4 c

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

Tabela XII: Viabilidade dos estágios de desenvolvimento da espécie *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) em %, tratada com extrato em acetato de etila de folhas de *Clusia lanceolata* C. (Clusiaceae) (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório.

Tratamento	Viabilidade Larval	Viabilidade Pupal	Viabilidade Neolarva a Adulto
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Controle Puro	91,3 ± 2,9 a	94,9 ± 2,1 ab	86,6 ± 0,8 a
Controle DMSO	84,6 ± 3,5 ab	94,3 ± 4,4 ab	80 ± 6,1 ab
FCLAE 0,1 mg/mL	80,6 ± 2,9 b	89,2 ± 9,4 a	72 ± 5 bc
FCLAE 0,3 mg/mL	75,8 ± 8,7 b	98,9 ± 2,3 b	74 ± 9,2 bc
FCLAE 0,5 mg/mL	66 ± 3,7 c	97,9 ± 5,2 b	65,3 ± 4 c

Letras distintas representam médias diferentes entre si. DP = Desvio Padrão

Comparando as mortalidades causadas no estágio larval de *M. domestica* (Figura 11), é possível visualizar que os tratamentos que causaram a maior taxa de mortalidade foram FCPAE e FCLM. A mortalidade causada por esses dois tratamentos são superiores às mortalidades larvais encontradas por Cabral et al. (2008) com diferentes extratos de *M. azedarach* (Controle: A: 15%; B: 21%; C: 23%; D: 27%) em *M. domestica*. Outros extratos testados em diferentes dípteros, tiveram sua mortalidade larval avaliada como satisfatória em torno desses valores como relatado por Carriço et al. (2014) que encontraram a mortalidade de *C. putoria* tratada com extrato de *P. sapota*

a 5% em 52,5%, Mendonça et al. (2011) testando o látex de amapazeiro *P. amapa* em *C. megacephala* em 35% e Gomes et al. (2008) com 40% de mortalidade ao testar o látex e *E. splendens* var. *hislopii* em *P. chrysostoma* na concentração de 0,2%.

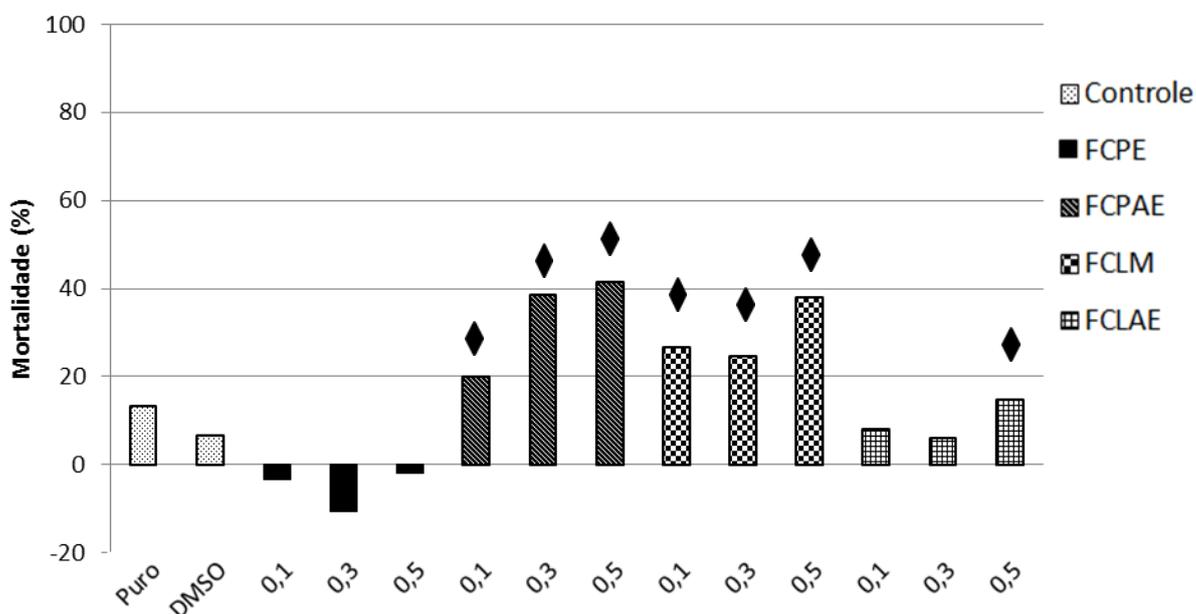


Figura 11: Mortalidade larval corrigida pela fórmula da correção de Abbott (Abbott 1925) da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

A mortalidade do estágio pupal obteve uma variabilidade menor nos grupos tratados, com somente dois extratos variando significativamente com os dois grupos controle (Figura 12). Essa baixa mortalidade no período pupal pode ser explicada pelo fato desse período ser caracterizado por mudanças grandes internas e pouca influência de fatores externos ao metabolismo (Needham 1929). Porém, em algumas concentrações, foram encontrados valores de mortalidade consideráveis (FCPAE 0,3 mg/mL:16,3; FCLM 0,5 mg/mL:22,7%), que também foram relatadas nos experimentos

de Gomes et al. (2008) utilizando extrato de *M. azedarach*. Essa mortalidade encontrada no presente experimento poderia ser explicada devido à abundância de benzofenonas nos extratos testados, que atuam como conservantes da atividade biológica desses compostos (Ivie e Casida 1971).

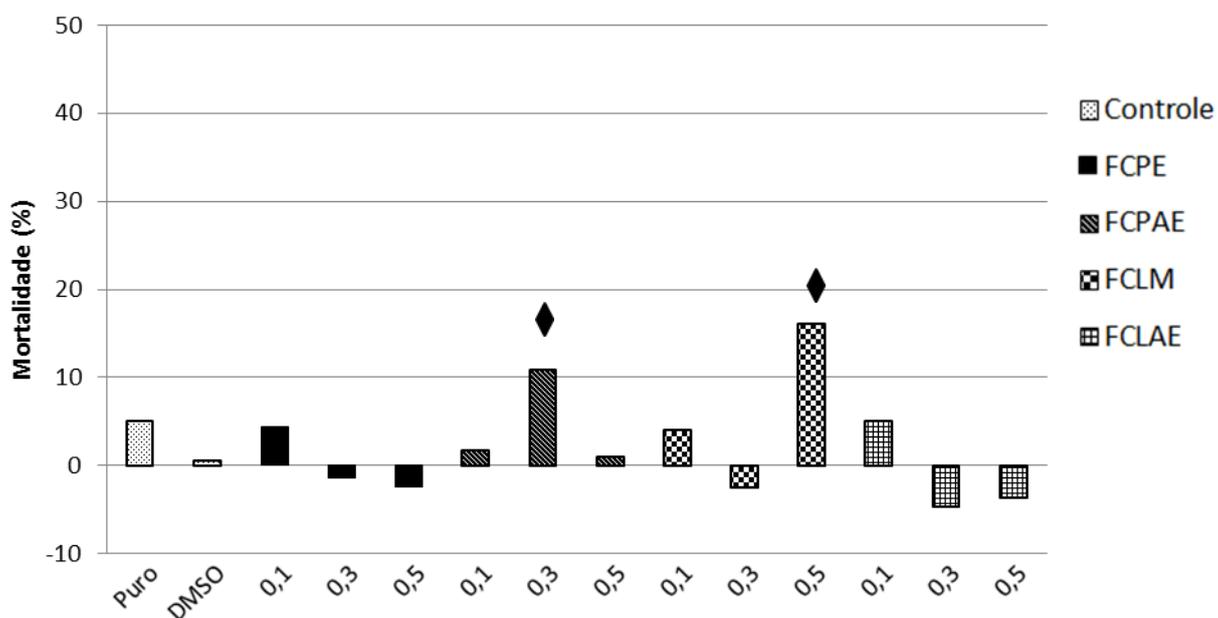


Figura 12: Mortalidade pupal corrigida pela fórmula da correção de Abbott (Abbott 1925) da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “♦” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

Segundo d’Almeida et al. (2001), a fase de desenvolvimento que melhor serve como parâmetro para verificação da bioatividade dos compostos seria a de neolarva a adulto. Nessa fase é onde a maioria da literatura disponível calcula as concentrações letais (CL50, CL90 e CL diagnóstica) de compostos testados, como feito por Sukontason et al. (2004), Shoukry (1997) e Miller e Chamberlain (1989). OS tratamentos FCPAE, FCLM e a maior concentração (0,5 mg/mL) de FCLAE diferenciaram significativamente dos controles sendo que a maior concentração de FCPAE se mostrou a mais promissora apresentando a maior mortalidade (0,5 mg/mL: 62,4%). Essa concentração é relativamente próxima às encontradas por Sukontason et

al. (2004) para CL50 (0,1 mg/mL) de eucaliptol e muito abaixo da encontrada por Miller e Chamberlain (1989) (20.2mg/mL) de azadiractina testadas em *M. domestica*, colocando esses extratos como viáveis no controle desses dípteros.

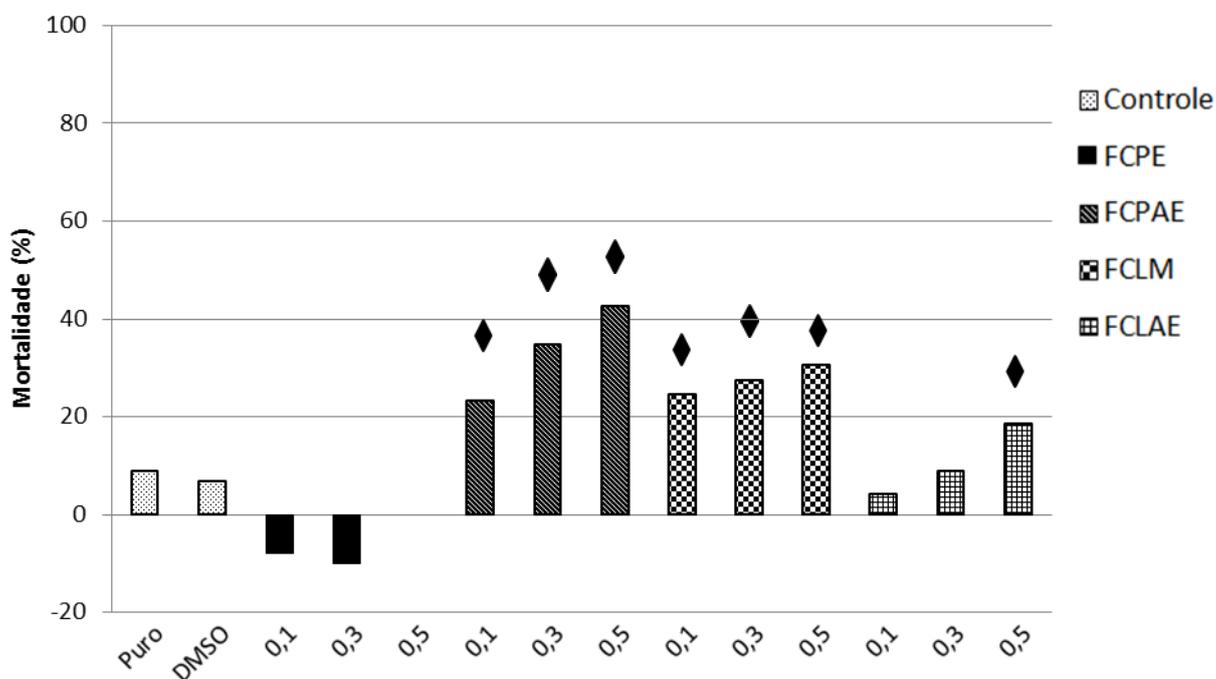


Figura 13: Mortalidade de neolarva a adulto corrigida pela fórmula da correção de Abbott (Abbott 1925) da espécie *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) tratada com os extratos de frutos de *Clusia paralicola* G. extraídos em etanol (FCPE) e acetato de etila (FCPAE) e de folhas de *Clusia lanceolata* C. extraídos em metanol (FCLM) e acetato de etila (FCLAE) nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL e grupos controle (puro e DMSO), em condições de laboratório. Colunas com “◆” apresentaram diferença significativa para ambos os grupos controle.

5. CONCLUSÕES

- Todos os extratos testados mostraram algum tipo de efeito no desenvolvimento pós-embrionário de *M. domestica*.

- Os extratos FCPAE e FCLM reduziram significativamente a duração do desenvolvimento de imaturos de *M. domestica*.
- Os extratos testados não causaram redução da alimentação de larvas de *M. domestica* devido a falta de variação significativa no seu peso pupal, com exceção do extrato FCPE, que aumentou o consumo da dieta pelas larvas, por ter gerado pupas mais pesadas.
- Nenhum extrato alterou a razão sexual dos indivíduos de *M. domestica* tratados, o que infere que os compostos não relacionam sua atividade com o sexo desses dípteros.
- Os tratamentos FCPAE, FCLM e FCLAE tiveram concentrações com mortalidades significativamente mais elevadas que os controles, o que aponta uma atividade inseticida adequada.
- Se tratando de mortalidade absoluta o extrato FCPAE na concentração 0,5 mg/mL é o mais adequado para uso como inseticida, por apresentar elevada mortalidade em concentração relativamente baixa.
- Nesse estudo, extratos feitos com acetato de etila apresentaram uma mortalidade relativa mais elevada do que os extratos feitos com etanol.

BIBLIOGRAFIA

Abbott WS. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 1925. 18: 265-266.

Alcoforado-Filho FG.; Sampaio EV de SB, Rodal MJN. Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifólia espinhosa arbórea em Caruaru, Pernambuco. *Acta Botânica Brasílica*. 2003. v. 17, n. 2, p. 287-303

Aktar W, Sengupta D, Chowdhury A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisc Toxicol*. 2009. V. 2(1): 1–12.

ATSDR. Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD. Atlanta, GA:Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2002.

Barin A, Arabkhazaeli F, Rahbari S, Madanis A. The housefly, *Musca domestica*, as a possible mechanical vector of Newcastle disease virus in the laboratory and field. *Medical and Veterinary Entomology*. 2010. 24, 88–90

Bell A, Fellows LE, Simmonds MSJ. Natural products from plants for the control of insect pests. In: Hodgson E, Kuhr RJ. Safer insecticide development and use. New York and Basel, Marcel Dekker, 1990, p.337-383.

Bennet SM. The house fly (*Musca domestica*). 2006. Disponível em: <http://www.thepiedpiper.co.uk/th6a.htm>

Bidawid SP, Edeson JFB, Ibrahim J, Matossian RM. The role of non-biting flies in the transmission of enteric pathogens (*Salmonella* spp. and *Shigella* spp.) in Beirut. Lebanon. *Ann Trop Med Parasitol* 1978; 72: 117-121.

Bloomcamp CL, Patterson RS, Koehler PG. Cyromazine resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol*. 1987. 80: 352:357.

Boger M, Durr D, Gsell L, Hall RG, Karrer F, Kristiansen O et al. Synthesis and structure–activity relationships of benzophenone hydrazone derivatives with insecticidal activity. *Pest Manag Sci*. 2001. 57:191±202

Bowers WS. Insect-plant interaction: endocrine defenses. *Origins and Development of Adaptation*. London. Pitman. 1984b. 102: 119-131

- Brunherotto R, Vendramim JD. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. *Neotropical Entomology*. 2001. 30: 455-459.
- Buss EA, Park-Brown SG. Natural products for insect pest management. IFAS Extension, University of Florida. 2006. ENY-350; 6 p
- Cabral MMO, Crescente ERF, Mendonça PM, Gomes CMS, Oliveira VC, Kelecom A. *Melia azedarach* L. extracts and their activity on *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008. 18 (Supl.): 699-702.
- Cárdenas M, Martínez R. Parasite protozoa of importance in public health picked up by *Musca domestica* Linnaeus in Lima, Peru. *Rev. Peru. biol.* 2004. v.11 n.2.
- Cardoso MFC. Dimetilssulfóxido (CAS No. 67-68-5). *Revista Virtual de Química*. 2011. V-3, N° 4.
- Cariço C, Pinto ZT, Sanchez CMD, Caetano RL, Pessanha RR, Chil-Nuñez I, Mendonça PM, Escalona-Arranz JC, Reyes-Tur B, Queiroz MMC. Biological Activity of *Pouteria sapota* Leaf Extract on Post-embryonic Development of Blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2014. 24: 304-308.
- Cloyd R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better than conventional insecticide? *Illinois Pesticide Review*. 2004. 17: 1-3.
- Constantino PAL, Monteiro RF, Wilson MD. Gall midget attack intensity and host plant response in a Neotropical coastal ecosystem. *Rev. Bras. Entom.* 2009. 53, 391.
- Corrêa JCR, Salgado HRN. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*. 2011. v.13, n.4, p.500-506
- Crespo DC, Lecuona RE, Hogsette JA. Biological Control: An Important Component in Integrated Management of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Caged-Layer Poultry Houses in Buenos Aires, Argentina. *Biological Control*. 1998. 13, 16–24
- de Oliveira CMA, Porto ALM, Bittrich V, Vencato I, Marsaioli AJ. Floral resins of *Clusia* spp.: chemical composition and biological function. *Tetrahedron Letters*, 1996. v. 37, p. 6427-6430.

- De Oliveira CMA, Porto ALM, Bittrich V, Marsaioli AJ. Two polyisoprenylated benzophenones from the floral resins of three *Clusia* species *Phytochemistry* 1999. 50, 1073-1079.
- Dehghani R, Sedaghat MM, Sabahi-Bidgoli M. Wound Myiasis due to *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Persian Horned Viper, *Pseudocerastes persicus* (Squamata: Viperidae). *J Arthropod-Borne Dis.* 2012. 6(1): 86–89.
- Dethier VG. Mechanisms of host plant recognition. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 1982. 31: 49-56.
- Farnham AW. Genetics of resistance of pyrethroid-selected houseflies, *Musca domestica* L. *Pesticide Science.* 1973 V. 4, I. 4, 513–520.
- Ferraz ACP, Proença B, Gadelha BQ, Faria LM, Barbalho MGM, Aguiar-Coelho VM, Lessa CSS. First record of human myiasis caused by association of the species *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), *Sarcophaga (Liopygia) ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae), and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology.* 2010. 47(3):487-490
- Ferreira RO, S. da Silva TM, Carvalho MG. Flavonas, feofitinas e esteróides isolados de folhas de *Clusia lanceolata* Cambess (Clusiaceae). XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. Rio de Janeiro (XIVERSBQ-Rio). 2013.
- Fill M, Coronado R. Ryanodine receptor channel of sarcoplasmic reticulum. *Trends Neuroscience.* 1988, 11: 453-457
- Fotedar R, Banerjee U, Shrinivas SS, Verma AK. The housefly (*Musca domestica*) as a carrier of pathogenic microorganisms in a hospital environment. *Journal of Hospital Infection.* 1992b. 20, 209–215.
- Freitas SRQ. Bioatividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae). 2008. 78p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- Gomes CMS, d'Almeida JM, Santos JAA. Avaliação do efeito do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* (EUPHORBIACEAE) no desenvolvimento pós-

- embrionário de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (DIPTERA, SARCOPHAGIDAE) em condições de laboratório. *Entomol. Vect.* 2003. 10 (1): 109-120,
- Greenberg B. Flies and disease. Vol I Ecology, classification and biotic association. Princeton. Princeton Univ. Press, 1971. 856p.
- Greenberg B. Flies and Disease. Vol II: Biology and disease transmission. Princeton. Princeton Univ. Press. 1973. 447p.
- Gustafson KR, Blunt JW, Munro MHG, Fuller RW, McKee TC, Cardellina II JH, et al. The guttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*. *Tetrahedron.* 1992. v. 48. No. 46. Pp. 10093-10102.
- Gustafsson MHG, Bittrich V, Stevens PF. Phylogeny of Clusiaceae based on rbcL sequences. *International Journal of Plant Sciences.* 2002. V. 163, N.6. 1045-1054.
- Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol.* 2000. 45:371–391
- Ivie GW, Casida JE. Sensitized photodecomposition and photosensitizer activity of pesticide chemicals exposed to sunlight on silica gel chromatoplates. *J. Agr. Food Chem.* 1971. V. 19, No. 3,
- Kim SI, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research.* 2003. v.39, p.293-303.
- Koo SJ, Ahn SC, Lim JS, Chae SH, Kim JS, Lee JH, Cho JH. Biological Activity of the New Herbicide LGC-40863 M-benzophenone {O-[2,6-bis[(4,6-dimethoxy-2-pyrimidinyl)oxy]benzoyl]oxime}. *Pestic. Sci.* 1997. 51, 109-114.
- Lokvam J, Braddock JF, Reichardt PB, Clausen TP Two polyisoprenylated benzophenones from the trunk latex of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). 2000. V.55, I. 1, pp. 29–34

- Maia AAM, Gomes AG. Vetores de *Dermatobia hominis*, (Linnaeus, 1781) (Diptera: Cuterebridae) na região de Uberaba, Minas Gerais. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 1988. [S.l.], v. 25, n. 1, p. 47-51.
- Malik A, Singh N, Satya S. House fly (*Musca domestica*): A review of control strategies for a challenging pest. Journal of Environmental Science and Health. 2007. Part B. 42, 453–469
- Marchiori CH, Castro MEV, Paiva TCG, Teixeira FF, Silva CG. Dípteros muscoides de importância médica e veterinária e seus parasitoides em Goiás. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 52, n. 4, 2000. p. 215-220
- Mendonça PM, Lima MG, Albuquerque LRM, Carvalho MG, Queiroz MMC. Effects of Latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on Blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) Post-embryonic Development. Veterinary Entomology. 2011. 178: 379-382.
- Miller JA, Chamberlain WF. Azadirachtin as a larvicide against the horn fly, stable fly, and house fly (Diptera: Muscidae). J. Econ. Entomol. 1989, 82, 1375–1378.
- Miller RW, Pickens LG, Potts WE. Comparison of traps and an integrated program to manage house flies and stable flies on dairy farms. J. Agric. Entomol. 1993. 10, 189–196.
- Mordue (Luntz) AJ, Blackwell A. Azadirachtin: a update. Journal of Insect Physiology. 1993. 39: 903-924.
- Mörner J, Bos R, Fredrix M. Reducing and eliminating the use of persistent organic pesticides. Guidance on alternative strategies for sustainable pest and vector management. 2002. 91p. Disponível em: <http://www.who.int/heli/risks/vectors/vectordirectory/en/index.html> Acessado em: Novembro/2014
- Nazni WA, Seleena B, Lee HL, Jeffery J, Rogayah TAR, Sofian MA. Bacteria fauna from the house fly, *Musca domestica*. Tropical Biomedicine. 2005. 22(2): 225–231
- Needham, DM. The chemical changes during the metamorphosis of insects. Biological Reviews. 1929. 4: 307–326.

Oliveira RF, Camara CA, Agrab MF, Silva TMS. Biflavonoids from the unripe fruits of *Clusia paralicola* and their antioxidant activity. *Natural Products Communications* Vol. 7, No. 12. 2012. 1597 – 1600.

Ortega YR, Sanchez R. Update on *Cyclospora cayetanensis*, a food-borne and waterborne parasite. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010. 23(1):218.

Otake S, Dee Sa, Moon RD, Rossow KD, Trincado C, Pijoan C. Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Veterinary Record.* 2004. 154, 80-85

Pavela R. Insecticidal properties of several essential oils on the housefly (*M. domestica* L.). *Phytother. Res.* 2008. 22, 274–278.

Pimprikar GD, Georghiou GP. Mechanisms of resistance to diflubenzuron in the house fly, *Musca domestica* (L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 1979 V. 12, I. 1, 10–22.

Pohlit AM, Rezende AR, Baldin ELL, Lopes NP, Neto VFA. Plant Extracts, Isolated Phytochemicals, and Plant-Derived Agents Which Are Lethal to Arthropod Vectors of Human Tropical Diseases – A Review. *Planta Med.* 2011; 77: 618–630

Polyakova YB. Response reactions of urban populations of house flies against anthropogenic influence. *Proceedings of the 3rd International Conference Of Urban Pests.* Robinson WH, Rettich F, Rambo GW (ed). 1999

Rahuma N, Ghenghesh KS, Ben-Aissa R, Elamaari A. Carriage by the housefly (*Musca domestica*) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya. *Annals of Tropical Medicine e Parasitology.* 2005. Vol. 99, No. 8, 795–802

Rattan RS. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection.* 2010. 29: 913-920

Sales MSN, Lara da Costa G, Bittencourt VREP. Isolation of Fungi in *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) Captured at Two Natural Breeding Grounds in the Municipality of Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,* Vol. 97(8). 2002. 1107-1110.

Saito ML. As Plantas Praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. Jaguariúna: Embrapa. 2004.

Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Hayashi T, Tsuda Y, et al. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006. 75(2), pp. 327–332.

Sehgal R, Bhatti HPS, Bhasin DK, Sood AK, Nada R, Malla N, Singh K. Intestinal myiasis due to *Musca domestica*: A report of two cases. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2002. 55, 191-193.

Sethajintanin D, Anderson KA. Temporal bioavailability of organochlorine pesticides and PCBs. *Environ Sci Technol.* 2006. 15; 40(12):3689-95.

Shono T, Scott JG. Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2003. V. 75, I. 1–2, p.1–7.

Shoukry, I.F. Toxicological deteriorations of two volatile oils of *Matricaria chamomilla* and *Clerodendron inerme* on the adult house fly *Musca domestica* L. *J. Egyptian Soc. Parasitol.* 1997, 27, 893–904.

Suffredini IB, Paciencia MLB, Nepomuceno DC, Younes RD, Varella AD. Antibacterial and cytotoxic activity of Brazilian plant extracts – Clusiaceae. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006. Vol. 101(3): 287-290.

Sukontason K, Bunchoo M, Khantawa B, Sukontason K, Piangjai S, Choochote W. *Musca domestica* as a Mechanical Carrier of Bacteria in Chiang Mai, North Thailand. *J. Vect. Ecol.* 2000. 25, 114–117.

Sukontason, K.L.; Boonchu, N.; Sukontason, K.; Choochote, W. Effects of eucalyptol on housefly and blow fly. *Revis. do Inst. De Medic. Tropic. de Sao Paul.* 2004. 46, 97–101.

Sulaiman S, Sohadi AR, Yunus H, Ibrahim, R. The role of some cyclorrhaphan flies as carriers of human helminths in Malaysia. *Med Veterinary Entomol* 1988; 2: 1-6.

Ucan CM, Erol B, Balacan F, Atilgan S, Yaman F, Arslanoglu Z, et al. Myiasis caused by *Musca domestica* larvae in child: a case study. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. Medwell Journals. 2011. 10(16): 2149-2152.

Umeche N, Mandah LE. *Musca domestica* as a carrier of intestinal helminths in Calabar, Nigeria. *East Afr Med J*. 1989. 66(5):349-52.

Upasani SM, Kotkar HM, Mendki PS, Maheshwari VL. Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids. *Pest Manag Sci*. 2003. 59:1349–1354

van Emden HF, Peakall DB. *Beyond Silent Spring: Integrated pest management and chemical safety*. Springer. 1996. 320p.

Wen Z, Scott JG. Cross-Resistance to Imidacloprid in Strains of German Cockroach (*Blattella germanica*) and House Fly (*Musca domestica*). *Pesticide Science*. 1997. V. 49, I. 4, p. 367–371.