

Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz  
Curso de Especialização em Entomologia Médica

**Bioatividade de óleo essencial de *Laurus nobilis* (Lauraceae) sobre  
*Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae)**

**Aluno: Vicente Xavier Martins Junior**

Orientador: Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Coorientador: Marcio Borges Pinto Lopes

Rio de Janeiro

2017

**Aluno: Vicente Xavier Martins Junior**

**Bioatividade de óleo essencial de *Laurus nobilis* (Lauraceae) sobre  
*Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae)**

Monografia submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de especialista  
em Entomologia Médica, Curso de  
Especialização em Entomologia  
Médica, pelo Instituto Oswaldo  
Cruz/FIOCRUZ.

**Laboratório de Entomologia Médica e Forense - LEMEF**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

Assinatura do Aluno

---

Assinatura do Orientador

---

Assinatura do 2º Orientador (opcional)

Junior, Vicente Xavier Martins.

Bioatividade de óleo essencial de *Laurus nobilis* (Lauraceae) sobre *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) / Vicente Xavier Martins Junior. - Rio de Janeiro, 2017. 52 f.; il.

Monografia (Especialização) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Entomologia Médica, 2017.

Orientadora: Margareth Maria de Carvalho Queiroz. Co-orientador: Márcio Borges Pinto Lopes.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Entomologia. 2. Controle. 3. Diptera. 4. Calliphoridae . I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICICT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## AGRADECIMENTOS

- À Deus.
- À minha família que esteve do meu lado quando eu fiquei estressado com esse projeto.
- Ao Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz que me deu a oportunidade de fazer essa especialização e de fazer esse projeto.
- À Profa. Dra. Margareth Queiroz, pela orientação e ter colocado a estrutura do Laboratório de Entomologia Médica e Forense à disposição para desenvolver a pesquisa e obter os resultados.
- Ao PAEF e POM do laboratório que me proporcionaram a estrutura para fazer os experimentos e a compra de todos os insumos para a realização desta pesquisa.
- Ao Professor Márcio Borges que aceitou ser meu co-orientador e me ajudou desde o início do projeto e se mostrou sempre disponível para ajudar e tirar qualquer dúvida.
- Aos meus colegas do laboratório e as pesquisadoras do LEMEF as Doutoras Viviane Zahner e Marina Vianna Braga que contribuíram e que me ajudaram na realização deste projeto, em especial ao Lucas Cortinhas que ajudou muito neste projeto bem como ao Dr. Carlos M. S. Dutok pelas contribuições ao presente trabalho.
- À todos os professores do Curso de Especialização em Entomologia Médica por seus ensinamentos, assim como à secretaria acadêmica por sempre nos dar apoio ao longo do curso.

## RESUMO

Os inseticidas estão entre as principais técnicas utilizadas no controle de diversas pragas e também de vetores. Os inseticidas naturais são bem mais vantajosos em relação aos sintéticos por conta de sua obtenção ser feita através de recursos renováveis e também a sua degradação é rápida. A família Calliphoridae é formada por dípteros muscoides e possui uma ampla distribuição mundial possuindo em torno de 1000 espécies catalogadas em 150 gêneros. A espécie estudada é a mosca verejeira *Lucilia cuprina*, que apresenta importância médica-veterinária e forense. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre o desenvolvimento pós-embrionário, de *Lucilia cuprina*, Caracterizar o efeito do óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre o ciclo de desenvolvimento pós-embrionário de indivíduos da espécie *Lucilia cuprina* através das variações induzidas no peso larval, estágios larval e pupal e período de neolarva-adulto, Determinar o efeito tóxico do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre a viabilidade da espécie *Lucilia cuprina* nas suas diferentes fases de desenvolvimento, calcular a dose letal e as doses diagnosticas (DL<sub>10</sub>, DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub>) do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre a espécie *Lucilia cuprina* e Determinar as alterações morfológicas na espécie *Lucilia cuprina*, após o tratamento com o óleo essencial de *Laurus nobilis*. A coleta das moscas foi feita em uma caçamba de lixo, localizada nas proximidades da FIOCRUZ. Essa coleta foi feita utilizando rede entomológica, chamada de “puçá” e as moscas foram armazenadas em tubos Falcon. As moscas foram mantidas em gaiolas teladas (30 cm comprimento x 30 cm largura x 30 cm altura). As diferentes concentrações (15, 35, 70, 75, 150, 300 µg/µL) do óleo essencial foram aplicadas sobre as neolarvas com auxílio de uma pipeta de precisão. Após o abandono das larvas maduras da dieta, essas foram pesadas individualmente em balança analítica e armazenadas em tubos de ensaio contendo vermiculita até ¼ do seu volume e fechado com tecido de náilon “tipo escaline” e preso com elástico. O peso foi registrado numa tabela modelo onde além do peso, foram registradas a data de pupação e a data de emergência. Os resultados mostraram que houve alteração em todos os estágios avaliados. Foi possível concluir que o óleo essencial causou diversas deformações nas moscas dos grupos que receberam as concentrações 15, 35 e 70 µg/µL do óleo essencial de *Laurus nobilis*, como asas atrofiadas, ausência de coloração (esverdeada metálica) e algumas moscas não chegaram a emergir do pupário, morrendo antes de completar o ciclo. As concentrações 75, 150 e 300 µg/µL do óleo essencial de *Laurus nobilis* foram letais para as larvas, fazendo com elas viessem a morrer nas primeiras 24 h.

**Palavras-chave:** Entomologia, Controle, Diptera, Calliphoridae

## ABSTRACT

Insecticides are among the main methods of controlling various pests and also vectors. Natural insecticides are more advantageous than synthetics from their renewed and rapid source of energy. The Calliphoridae family is formed by muscled dipterans and has a worldwide distribution with around 1000 species cataloged in 150 genera. One lesson studied is a vertebral fly *Lucilia cuprina*, which has medical-veterinary and forensic importance. The objective of this work was the effect of the essential oil of *Laurus nobilis* on the post-embryonic development of *Lucilia cuprina*. Characterize the effect of the essential oil of *Laurus nobilis* on the post-embryonic development cycle of *Lucilia cuprina* individuals through induced copies without larval weight, larval and pupal stages, and neolarva period. To determine the effect of treatment with *Laurus nobilis* essential oil on a viability of the Lucillium Catching solution in its phase of development, to calculate a lethal dose and as diagnostic doses (DL10, DL50 and DL90) of the treatment with *Laurus nobilis* essential oil *nobilis* on a *Lucilia cuprina* species and Determine the morphological changes in the *Lucilia cuprina* species after treatment with the essential oil of *Laurus nobilis*. The flies were collected in a garbage bin, located near FIOCRUZ. This collection was made using the entomological, called puçá and how flies were stored in volumes. The flies were kept in screened cages (30 cm x 30 cm x 30 cm). The different concentrations (15, 35, 70, 75, 150, 300 µg / µL) of the oil were reached as neolavas using a precision pipette. After abandonment of the mature breasts from the diet, these were weighed out on analytical balance and stored in test tubes while vermiculating up to ¼ of the volume and closed with "scaly" type nylon tissue and fastened with elastic. The weight was seen in the date of the case that beyond weight, were an date of pupation and the date of emergency. The results were those that were changed. It was possible to conclude that the essential behavior caused several deformations in the flies of the groups that received the 15, 35 and 70 µg / µl of essential oils of *Laurus nobilis*, such as atrophied wings, absence of coloration (metallic greenery) and some flies did not emerge of the puparium, dying before completing the cycle. Glycates 75, 150 and 300 µg / µl of *Laurus nobilis* essential oil were lethal to larvae, causing them to die within the first 24 h.

**Keywords:** Entomology, Control, Diptera, Calliphoridae

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Importância do Controle de insetos .....	11
1.2 Família Lauraceae .....	12
1.3 Ordem Diptera .....	13
1.4 Família Calliphoridae .....	16
2. OBJETIVOS .....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos .....	19
3. METODOLOGIA.....	20
3.1 Estabelecimento e manutenção da colônia de dípteros muscoides. ....	20
3.2 Bioensaio de atividade inseticida em dípteros muscoides .....	22
3.3 Obtenção, registro e análise estatística dos dados .....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1 Efeito do tratamento com óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> sobre a massa corporal das larvas em instar L3 de <i>Lucilia cuprina</i> .....	24
4.2 Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> sobre a duração do estágio larval de <i>Lucilia cuprina</i> .....	26
4.3 Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> sobre o estágio pupal de <i>Lucilia cuprina</i> . ....	27
4.4 Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> sobre o período neolarva-adulto de <i>Lucilia cuprina</i> . ....	28
4.5 Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> sobre a viabilidade de <i>Lucilia cuprina</i> .....	29
4.6 Alterações morfológicas encontradas na espécie <i>Lucilia cuprina</i> após o tratamento com óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> .....	32
5. CONCLUSÕES .....	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45
ANEXOS .....	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Planta da família Lauraceae. Fonte: asplantasmedicinais.com.....	13
Figura 2: <i>Lucilia cuprina</i> . Fonte: museumvictoria.com.au .....	18
Figura 3: Estante ventilada para criação dos insetos, reguladas a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e a umidade relativa do ar de $80 \pm 10\%$ e 12h de fotoperíodo.....	21
Figura 4: Placa de <i>Petri</i> contendo carne moída e recipiente com solução açucarada. ....	21
Figura 5: Aplicação das diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> sobre as larvas de <i>Lucilia cuprina</i> . ....	23
Figura 6: Mortalidade estágio larval de <i>Lucilia cuprina</i> tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> .....	30
Figura 7: Mortalidade estágio pupal de <i>Lucilia cuprina</i> tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> . ....	31
Figura 8: Mortalidade período neolarva-adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> .....	31
Figura 9: Pupa de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista lateral. ....	33
Figura 10:Pupa de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista dorsal. ....	33
Figura 11: Pupa de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> vista frontal.....	34
Figura 12: Pupa de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista lateral. ....	34
Figura 13: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle puro, vista dorsal. ....	35
Figura 14: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle puro, vista lateral. ....	35
Figura 15: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle puro, vista frontal. ....	36
Figura 16: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle DMSO, vista dorsal.....	36
Figura 17: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle DMSO, vista lateral.....	37
Figura 18: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> do controle DMSO, vista frontal.....	37
Figura 19: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> em condições de laboratório. ....	38
Figura 20: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 $\mu\text{L}$ do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> vista lateral. ....	38



Figura 21: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> vista frontal. ....	39
Figura 22: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração 35 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista dorsal. ....	40
Figura 23: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 35 µl do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> vista lateral. ....	40
Figura 24: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 35 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista frontal. ....	41
Figura 25: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> , vista dorsal. ....	41
Figura 26: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista lateral ....	42
Figura 27: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , vista frontal. ....	42
Figura 28: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 15 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , com alterações morfológicas e sem a fixação da cor esverdeada metálica. ....	43
Figura 29: Adulto de <i>Lucilia cuprina</i> tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial <i>Laurus nobilis</i> , com alterações morfológicas e sem a fixação da cor esverdeada.....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela I. Cálculo do peso larval de <i>Lucilia cuprina</i> , expresso em mg, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> , em condições de laboratório. ....	25
Tabela II. Duração do estágio larval de <i>Lucilia cuprina</i> , expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> , em condições de laboratório. ....	27
Tabela III. Duração do estágio pupal de <i>Lucilia cuprina</i> , expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Laurus nobilis</i> , em condições de laboratório. ....	28
Tabela IV. Duração do período de neolarva-adulto de <i>Lucilia cuprina</i> , expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de uma espécie do gênero <i>Laurus nobilis</i> , em condições de laboratório. ....	29

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Importância do Controle de insetos

Os inseticidas estão entre as principais técnicas utilizadas no controle de diversas pragas e também de vetores. O uso desses produtos permitiu que ocorressem muitos avanços no que se refere à agricultura e ao controle de doenças como a malária, tifo e a febre amarela (Van Emden e Peakall 1996). Os métodos de controle de insetos mais empregados são classificados como químicos e alternativos.

Os inseticidas naturais são bem mais vantajosos em relação aos sintéticos por conta de sua obtenção ser feita através de recursos renováveis e também a sua degradação é rápida. (Vieira et al. 2001), fazendo com que o inseto tenha uma probabilidade menor de gerar resistência (Roel 2001), porém mesmo com os inseticidas botânicos é necessário ter a mesma cautela que se tem com os compostos químicos (Brechelt 2004).

Os inseticidas de origem sintética, chamados de químicos, começaram a aparecer por volta dos anos de 1940. Esses inseticidas atuam no sistema nervoso dos insetos causando a morte do mesmo (Buss e Park-Brown 2006).

Em relação aos dípteros sinantropicos, este é o meio que mais se utiliza, sendo que os mais utilizados são os organoclorados e organofosforados (Vieira et al. 2001). Estes compostos possuem algumas propriedades que faziam com os mesmos se tornassem próprios para o uso em grande escala, podendo citar como exemplo o baixo custo de produção, longa ação residual e a toxicidade para um amplo espectro de pragas e vetores (Sethajintanin e Anderson 2006), e o Brasil, é o maior produtor e consumidor de pesticidas na América Latina (Roel 2001). Entretanto o uso desses inseticidas para o controle de insetos é muito perigoso para o homem e para os animais, por conta do risco de poluição do ar, a água e a cadeia alimentar (Mendonça et al. 2011) e também são tóxicos tanto para os animais vertebrados quanto para os insetos polinizadores (Aktar et al. 2009) por conta de sua alta lipossolubilidade e também por conta dos compostos clorados serem biocumulativos, o que faz com que fiquem retidos no tecido vivo (Funasa 2001; Ritter et al. 1995).

Diversas substâncias naturais que são extraídas de plantas possuem algumas propriedades repelentes em relação aos insetos, fazendo com que eles não consigam se alimentar. Estes compostos possuem componentes tóxicos que podem alterar o desenvolvimento dos insetos (Feinstein 1952; Cabral et al. 2007a; Mendonça et al. 2011), e também apresentarem hormônios e anti-hormônios que podem ser de grande utilidade para a proteção de plantas agrícolas de pragas e controle de vetores causadores de doenças (Bowers 1984; Bell et al. 1990).

Mesmo com o grande conhecimento sobre os inseticidas botânicos, o uso fica restrito aos países desenvolvidos. As plantas possuem uma grande variedade de produtos naturais com potencial para este fim e muitos laboratórios mundiais têm feito pesquisas com diversas espécies de plantas superiores, afim de se obter não só produtos farmacêuticos, como também para o controle de pragas (Cabral et al. 2008)

## 1.2 Família Lauraceae

Os primeiros registros relacionados à utilização das espécies de Lauraceae datam de 2.800 A.C, e são originários da Grécia antiga o que influenciou o nome de muitos gêneros que fazem uma alusão àquela época. “*Laurus* L., por exemplo, vem do celta” “lauer” que significa verde ou ainda “laus” que significa louvor (Barroso et al. 1978; Coe-Teixeira 1980).

A família Lauraceae (Figura 1) possui ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, formada por 49 gêneros e aproximadamente 3000 espécies (Werff e Richter 1996). No Brasil ocorrem 22 gêneros, com a maior parte ocorrendo em regiões de florestas pluviais, restingas e os cerrados (Barroso 2002). É considerada uma das famílias mais primitivas e pertence à divisão Magnoliophyta. Sua característica anatômica e morfológica as aproxima de outras famílias como Calycanthaceae, Idiiospermaceae e Hernandiceae (Cronquist 1988). A família Lauraceae possui grande importância mundial no que se refere à fonte de produtos naturais de alto valor comercial, como por exemplo, o abacate (*Persea americana*), a canela (*Cinnamomum verum*), bem como espécies aromáticas com óleos utilizados para perfumaria (Quinet e Andreatta 2002; Marques 2001).

Essa família possui um grande número de espécies de importância econômica (madeiras, óleos essenciais e frutos comestíveis) e fitossociológica (Gottlieb 1972; Klein 1974; Rizzini 1979).



**Figura 1: Planta da família Lauraceae. Fonte: [asplantasmedicinais.com](http://asplantasmedicinais.com)**

### **1.3 Ordem Diptera**

A ordem Diptera é conhecida por possuir insetos com duas asas e o segundo par de asas traseiras sendo reduzidos, denominados de halteres ou balancins, ou seja, estes insetos possuem apenas duas asas membranosas e ao contrário de outros insetos que possuem quatro. Dentre todas as ordens, Diptera é uma das mais diversas, apresentando cerca de 153.000 espécies no mundo (Thompson 2008). De acordo com Carvalho et al (2012), o número de espécies desta ordem pode chegar a aproximadamente 400 mil, e a estimativa para o Brasil é de 60 mil espécies. Amorim 2009 calculou o número de espécies para o Brasil em 8.700 espécies descritas no e um total de 31.000 para a região Neotropical o que faz com esta ordem seja segunda maior da classe Insecta (Thompson 2008; Wiegmann et al. 2011).

Os dípteros muscoides são responsáveis pela transmissão de diversos patógenos ao ser humano como algumas enterobactérias patogênicas, vírus, fungos, helmintos e protozoários como ameba e giárdia por exemplo. Esses organismos também são responsáveis por um grande número de casos de diarreia em crianças, e algumas espécies de desta ordem podem produzir miíases. Há diversas bactérias e patógenos que podem ser transmitidos por moscas e as mais

comuns são: *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Shigella* sp. Sempre que uma mosca pousa em algum lugar, pode depositar milhares de bactérias e outros microorganismos (Greenberg 1971 e 1973).

As moscas podem causar ou produzir miíases, a qual é uma infestação por larvas de moscas, podendo ocorrer tanto em tecidos humanos quanto em tecido animal. As miíases provocam diversos danos ao tecido subcutâneo causados pelas larvas de moscas. As miíases podem ser classificadas de diversas formas a partir do ponto de vista clínico e entomológico. As miíases do tipo cutânea são muito comuns nos países tropicais das Américas do Sul e Central e também na África do Sul, e afetam o gado e também os pastores, mas também pode afetar: animais de estimação, indivíduos com alguma deficiência, pacientes em estado avançado de câncer, pessoas que visitam com frequência áreas rurais há a presença dessas moscas, etc. Os animais com infestação muito alta, mostram uma redução significativa no peso e também na produção de leite, e as peles desses animais são danificadas por perfuração, e com isso eles perdem valor comercial (Zumpt 1965; Guimarães e Papavaro 1999; Sukontason et al. 2005).

As moscas também são importantes decompositores de carcaças de animais e cadáveres por se alimentarem, viverem ou até se reproduzirem na carcaça, de acordo com suas preferências biológicas e do estágio de decomposição. Com isso, os dípteros muscoides se tornam de grande importância para a entomologia forense, pois podem contribuir na estimativa da datação do intervalo pós-morte (IPM), a qual é uma técnica mais acurada utilizada em investigações médico-criminais (Benecke 2004).

O desenvolvimento é do tipo holometábolo, ou seja, a metamorfose é completa (ovo → larva → pupa → adulto). A maioria das larvas desta ordem constitui de indivíduos ápodos com característica vermiforme (Borror et al. 2011).

O desenvolvimento dos dípteros ocorre em três fases até chegar na fase adulta: fase de ovo, estágio larval e estágio pupal. Em cada um dos estágios pode ser observada uma forma peculiar, podendo ocorrer pequenas ou grandes modificações (Imms 1957; Costa et al. 2006).

Os ovos podem assumir diversas formas como globular, esférica, cônica, reniforme, pedunculada e elipsoide, sendo esta última a mais comum em moscas. Também podem ser observadas variações na intensidade do brilho e na coloração podendo variar de branco até o preto. (Imms 1957; Costa et al. 2006). Apesar dessa grande diversidade, algumas estruturas são comuns a todos os ovos, tais como: cório, camada serosa, membrana vitelina, citoplasma e núcleo (Imms 1957). O cório quase sempre apresenta ornamentações e na maioria das vezes em áreas poligonais, costelas e retículos. Também apresentam uma área micropilar, sendo que em Diptera ocorre em número de um, sendo possível a ocorrência de mais de uma em outras ordens (Costa et al. 2006).

As larvas desta ordem são as mais variadas possíveis, porém uma característica é comum a todas as espécies do grupo que é a completa ausência de pernas torácicas (Peterson 1960; Costa et al. 2006). No desenvolvimento larval, as mudanças são muito sutis se compararmos ao desenvolvimento intrapuparial, onde ocorrem mudanças mais drásticas e geralmente essas mudanças estão relacionadas ao ganho de peso e crescimento, entretanto, durante a passagem de um instar para outro apenas a cutícula da larva é substituída e também algumas outras estruturas especializadas como as sensilas do tórax (Imms 1957; Costa e Ide 2008).

O estágio intermediário entre a fase de larva e a fase adulta é o estágio pupal. A pupa é formada pelo tegumento do último instar larval, o qual é chamado de pupário (Fraenkel e Bhaskaran 1973; Denlinger e Žďárek 1994). Durante a fase de pupa o inseto não se alimenta e também na grande maioria dos casos também não se movimenta (Costa e Vanin 1985; Costa et al. 2006). Contudo, no interior ocorre uma alta atividade como: Reorganização de tecidos, evaginação da cápsula cefálica e dos apêndices torácicos (Fraenkel e Bhaskaran 1973; Denlinger e Žďárek 1994). A formação do pupário e o grau de reorganização celular que ocorre na pupa é o que dá forma aos adultos e estes dois eventos variam de acordo com a espécie (Costa e Vanin 1985; Costa et al. 2006).

Duas formas de transmissão são possíveis entre os dípteros: Mecânica e vetorial. Na forma mecânica, o agente causador da doença não sofre nenhum tipo de desenvolvimento ou multiplicação no inseto, o qual serve apenas como transporte

para o patógeno enquanto que na segunda forma, o inseto atua como vetor biológico e neste caso o agente patogênico sofre multiplicação ou passa parte do seu desenvolvimento no interior do inseto, sendo na maioria das vezes no seu trato digestório (Marcondes 2001; Guimarães, Tucci, Barros-Battesti 2001; Neves 2005; Rey 2013).

#### **1.4 Família Calliphoridae**

A família Calliphoridae possui ampla distribuição mundial e é formada por mais de 1000 espécies e com cerca de 150 gêneros reconhecidos (Shewell 1987; Vargas e Wood 2010). Essa família possui uma diversidade ecológica muito grande e por conta disso é capaz de ocupar diferentes habitats (Skevington e Dang 2002). Esses dípteros são de médio a pequeno porte e de modo geral podem ser azulados, violáceos, esverdeados ou cúpreos, com reflexos metálicos.

No Brasil são conhecidas popularmente como moscas varejeiras (Buzzi 1994; Lenko e Papavero 1996). As larvas dessa família podem ser biontófagas, necrófagas ou necrobiontófagas, podendo causar miíases obrigatórias e facultativas, o que faz com que essas larvas sejam de extrema importância na saúde animal (Baumhover 1966).

A arista é plumosa, as cerdas na maioria das vezes são bem longas atingindo ápice. Nesses dípteros, o pós-escutelo é inexistente ou é pouco desenvolvido. O Mero e o anepímero possuem cerdas bem desenvolvidas, o catepisterno possui três cerdas, a notopleura possui duas cerdas e algumas vezes com uma acessória; cerda pós-umeral mais posterior se situa de modo mais lateral em relação à pré-sutural; o mesonoto pode ter ou não faixas pretas longitudinais; a nervura M1+2 é fortemente curvada para diante distalmente, desse modo faz com que a célula apical (R4+5) seja mais estreita; possui calípteros torácicos bem desenvolvidos; segmentos abdominais sem cerdas distais, ou estas pouco desenvolvidas; cerdas marginais de desenvolvimento variável (Serra-Freire e Mello 2006).

Os califórídeos que ocorrem na Região neotropical estão divididos em quatro subfamílias: Mesembrinellinae, Chrysomyinae, Calliphorinae e Toxotarsinae, possuindo aproximadamente 27 gêneros e 125 espécies (James 1970). As espécies



que causam míases na Região Neotropical são dos gêneros: *Cochliomyia* Townsend, *Comptosyiosps* Townsend, *Lucilia* Robineau-Desvoidy (incluindo *Phaenicia* Robineau-Desvoidy), *Calliphora* Robineau-Desvoidy e *Chrysomya* Robineau-Desvoidy. Sendo que nas Américas, apenas *Cochliomya hominivorax* (Cocquerel 1858) causa míases primárias obrigatórias, e as outras espécies mencionadas são consideradas invasoras secundárias de ferimentos ou facultativas (Francesconi e Lupi 2012).

Os califorídeos são dípteros muscoides e estão catalogados na subseção Calyptratae, por possuírem uma expansão membranosa em forma de concha na base de suas asas (Guimarães e Papavero 1999; Zucchi et al. 1993).

### 1.4.1 *Lucilia cuprina*

Atualmente são conhecidas 17 espécies do gênero *Lucilia* Robineau-Desvoidy 1830, existentes na região Neotropical (Kosmann et al. 2013). A espécie *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) (Figura 2) se alimenta de tecido morto, entretanto algumas vezes podem invadir tecido vivo quando há poucas opções, o que as torna causadoras de miíase facultativa (Visciarelli 2007). Uma das características mais marcantes dessa espécie é a coloração metálica com reflexos acobreados e também podem ser citadas como característica marcante a genitália bem desenvolvida, a frontália enegrecida e o triângulo ocelar, o qual possui dois pares de cerdas ocelares (Mello 1961 e 2003). O tamanho médio da mosca adulta pode variar entre 8,0 a 10,0 mm (Oliveira-Costa e Queiroz 2007). É uma espécie invasora e possui larga distribuição mundial (Byrd e Castner 2001; Andrade et al. 2005; Biavati et al. 2010), sendo encontrada inclusive no Brasil (Visciarelli 2007). Em várias regiões esta espécie é a principal responsável por miíases em animais, afetando principalmente os ovinos (Norris 1990; Mariconi et al. 1999; Stevens e Wallman 2006). No Brasil essa mosca pode ser encontrada em lixo urbano, substratos em decomposição, frutos caídos, néctar de flores e fezes humanas, sendo também potencial vetora de enteropatógenos para o homem (Mariconi et al. 1999). Pode ser encontrada associada a cadáveres humanos, o que faz com que ela tenha uma importância forense, demonstrando ser dominante durante a fase ativa de decomposição, participando diretamente da remoção de carcaças (Sukotason et al. 2007; Paes et al. 2005).



Figura 2: *Lucilia cuprina*. Fonte: [museumvictoria.com.au](http://museumvictoria.com.au)

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito do óleo essencial de uma espécie do *Laurus nobilis*. sobre o desenvolvimento pós-embrionário da espécie *Lucilia cuprina*.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Caracterizar o efeito do óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis* sobre o ciclo de desenvolvimento pós-embrionário de indivíduos da espécie *Lucilia cuprina* através das variações induzidas no peso larval, duração do estágio larval, pupal e no período de neolarva-adulto.
2. Determinar o efeito tóxico do tratamento com o óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis* sobre a viabilidade da espécie *Lucilia cuprina* nas suas diferentes fases de desenvolvimento.
3. Calcular a dose letal e doses diagnóstica ( $DL_{10}$ ,  $DL_{50}$  e  $DL_{90}$ ) do tratamento com o óleo essencial uma espécie do gênero *Laurus nobilis* sobre a espécie *Lucilia cuprina*.
4. Determinar as alterações morfológicas na espécie *Lucilia cuprina*, após tratamento com o óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis*

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Estabelecimento e manutenção da colônia de dípteros muscoides.

A coleta das moscas foi feita em uma caçamba de lixo, localizada nas proximidades da FIOCRUZ (comunidade do Amorim).

A coleta das moscas selvagens foi feita utilizando rede entomológica, chamada de puçá, os tubos Falcon foram utilizados para armazenar as moscas. Após a coleta as moscas foram levadas para o Laboratório de Entomologia Médica e Forense – LEMEF/IOC. As moscas foram mantidas em gaiolas teladas (30 cm comprimento x 30 cm largura x 30 cm altura) em condições de laboratório dentro de estantes ventiladas reguladas a temperatura média foi de  $27 \pm 1$  °C e a umidade relativa do ar de  $80 \pm 10\%$ , com 12h de fotoperíodo (Figura 3). Foi fornecida uma solução de água com açúcar (50%) e uma placa de Petri contendo carne bovina em início de putrefação (Figura 4).

As larvas da primeira geração de laboratório (F1) foram colocadas em potes contendo carne bovina para alimentação e vermiculita, como substrato de pupariação. Assim que atingiram a pupariação os potes foram transferidos para gaiolas teladas. Após a emergência dos adultos foram colocadas placas de Petri contendo carne bovina putrefata, a fim de maturar os ovários e estimular a oviposição. Os experimentos começaram a partir da postura dos adultos da segunda geração (F2).

Para obter os dados de mortalidade foi utilizada a correção de Abbott afim de se obter a mortalidade corrigida e com isso pode calcular as  $DL_{10}$ ,  $DL_{50}$  e  $DL_{90}$ . Uma vez utilizado o programa Polo se obteve como resultado calculado para o óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis* que a  $CL_{10}$  foi de 72,17  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , a  $CL_{50}$  foi de 72,55 e a  $CL_{90}$  esteve no valor de 72,92  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .



**Figura 3: Estante ventilada para criação dos insetos, reguladas a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e a umidade relativa do ar de  $80 \pm 10\%$  e 12h de fotoperíodo.**



**Figura 4: Placa de *Petri* contendo carne moída e recipiente com solução açucarada.**

### 3.2 Bioensaio de atividade inseticida em dípteros muscoides

Foram separados 30 casais de *Lucilia cuprina* oriundo da colônia estoque e no 10º dia foi estimulada a oviposição, estas foram separadas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido e aguardou-se a eclosão. Assim que as neolarvas eclodiram, estas foram separadas em grupos contendo 35 larvas por repetição (A, B e C), que foram transferidas para potes contendo 35g de carne bovina moída, em início de putrefação, ou seja, 1g por larva.

Os grupos foram controle puro, controle com DMSO e tratado com diferentes concentrações (15, 35, 70, 75, 150 e 300µL) de óleo essencial de *Laurus nobilis* e foram aplicadas em neolarvas com auxílio de uma pipeta automática (Figura 5). Assim que as larvas se tornaram maduras (L3) e começaram a abandonar a dieta, essas foram pesadas individualmente em balança analítica e armazenadas em tubos de ensaio contendo vermiculita e fechado com tecido de náilon “tipo escaline”, preso por elástico.

O peso foi registrado numa tabela modelo (Protocolo Operacional Padrão - POP do LEMEF), onde além do peso, foram registradas a data de pupação e a data que o adulto emergiu (para posterior contabilização). Cada indivíduo foi monitorado e observado diariamente e acompanhados até a emergência dos adultos. Todas as etapas foram mantidas em estantes ventiladas reguladas a temperatura (média) de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e a umidade relativa do ar de  $80 \pm 10\%$ , com controle de 12h de fotoperíodo.

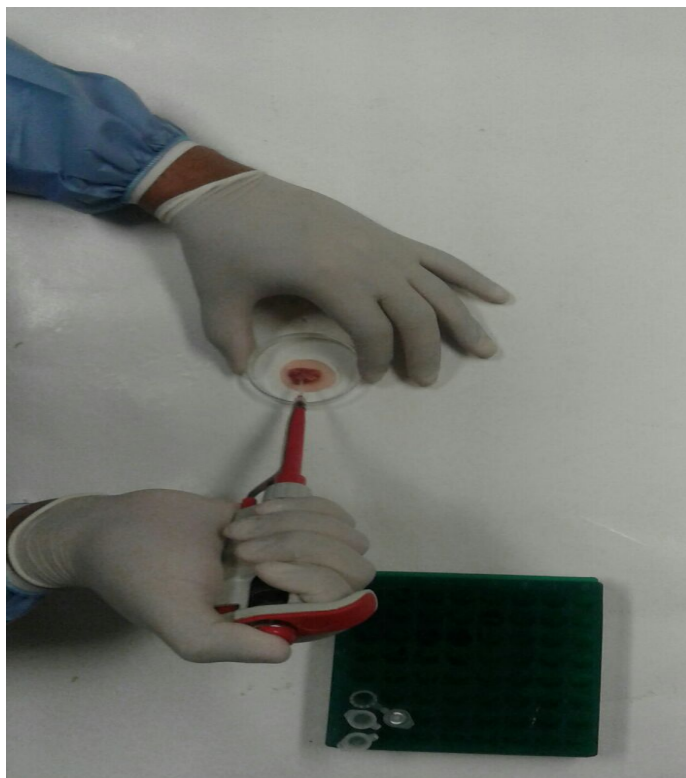


Figura 5: Aplicação das diferentes concentrações de óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre as larvas de *Lucilia cuprina*.

### 3.3 Obtenção, registro e análise estatística dos dados

Os dados para cada ensaio foram coletados em planilhas específicas e depois digitalizados no programa Microsoft Excel onde se construíram gráficos e tabelas. Os resultados da atividade inseticida sobre o desenvolvimento pós-embriônico de *Lucilia cuprina* foram analisados a través da Análise de Variância (ANOVA:  $p \leq 0,05$ ). Utilizou-se o Teste de Comparação Múltiplas de Medias de Tukey para à análise de significância estatística, e o desvio padrão foi calculado a través da média dos experimentos. O pacote estatístico utilizado na realização destas análises foi o Graph Pad Prism.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito do tratamento com óleo essencial *Laurus nobilis* sobre a massa corporal das larvas em instar L3 de *Lucilia cuprina*.

Como resultado da aplicação de óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre o estágio larval de *Lucilia cuprina*, um dos parâmetros a avaliar foi a massa corporal das larvas.

Na **Tabela I**, foi possível observar que as médias calculadas para o grupo controle e controle DMSO e os grupos que receberam as concentrações houve uma grande variação. A média do peso das larvas não variou muito em relação aos grupos controle e Controle DMSO, onde o grupo controle apresentou uma média de peso de 31,9 mg e o intervalo de variância foi 12 a 40,5 mg e o controle com DMSO apresentou uma média de peso de 30,3 mg com um intervalo de variância de 10 a 40,5 mg, porém os grupos que receberam as concentrações 15, 35 e 70  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  apresentaram um ganho de peso e se mostraram bem mais pesadas em relação aos grupos controle e controle DMSO, fazendo com que a diferença de peso fosse muito grande. Essa diferença de peso é explicada pelo tempo de alimentação das larvas que receberam as concentrações

e neste caso foi maior do que as larvas do grupo controle. Os grupos 75, 150 e 300  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  não possuem dados, pois as larvas morreram nas primeiras 24h, evidenciando assim a atividade inseticida do óleo essencial de *Laurus nobilis* (**Tabela I**).

Em relação aos grupos 15, 35 e 70  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  a média variou pouco e o intervalo de variância também, porém as larvas que receberam essas concentrações apresentaram uma média de peso maior em relação aos grupos controle e controle DMSO; a concentração de 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  apresentou uma média de 40,4 mg de peso em um intervalo de variância de 30,5 a 55,5 mg; a concentração de 35  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  obteve uma média de peso de 40,4 mg com um intervalo de variância de entre 30,3 e 54,7mg; e a concentração de 70  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  apresentou uma média de peso de 40,6mg e intervalo de variância de 32,4 a 54,3 mg.



Neste estudo, foi possível observar uma grande diferença entre os grupos controle e DMSO e os grupos que receberam as concentrações.

**Tabela I. Cálculo do peso larval de *Lucilia cuprina*, expresso em mg, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis*, em condições de laboratório.**

Grupo (Tratamentos)	Peso larval (mg)		
	$\bar{x} \pm DP$		IV
Controle	31,9 ± 5,5	a	12 - 40,5
DMSO	30,3 ± 5,3	a	10 - 40,5
15 µg/µL	40,4 ± 4,5	b	30,5 - 55,5
35 µg/µL	41,1 ± 4,4	b	30,3 - 54,7
70 µg/µL	40,6 ± 4,7	b	32,4 - 54,3

Sendo  $\bar{x}$  a média, DP o desvio padrão e IV o intervalo de variação. Letras distintas indicam médias diferentes entre si, quando comparadas ao grupo controle.

Ao comparar a média do peso dos grupos controle e controle DMSO do presente estudo ( $31,9 \pm 5,5$  e  $30,3 \pm 5,3$ ), observou-se que estas eram similares a aquelas alcançadas nas larvas estudadas por Pessanha et al. (2015) que obteve um valor de  $31,3 \pm 5,5$  mg ao avaliar os efeitos de *Brevibacillus laterosporus* sobre *L. cuprina*. Pinto et al. (2015) observaram larvas ligeiramente mais pesadas ( $33,19 \pm 3,41$  mg) ao avaliar o efeito do óleo de espécies de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) do Brasil e de Cuba, também sobre de *L. cuprina*. Entretanto, esta diferença não é significativa uma vez que os desvios padrão de cada uma destas médias permitem a sobreposição das faixas de peso que as abrangem.

No presente estudo, os grupos controle mostraram as menores médias de peso com diferença significativa quando comparado com todos os tratamentos com o óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis* Pessanha et al. (2015) fizeram uma análise de peso entre doze cepas de *B. laterosporus* que foram avaliadas e variaram entre  $26,4 \pm 15,3$  mg e  $37,8 \pm 2,2$  mg, dessa forma os grupos controle do presente estudo encontram-se numa posição intermediária quando comparados com os obtidos por esta equipe.

Já Pinto et al. (2015) obtiveram resultados bem diferentes aos obtidos com os atuais tratamentos com *Laurus nobilis* As médias do peso das larvas tratadas com o óleo de *C. citratus* obtido no Brasil estiveram na faixa entre  $26,85 \pm 9,94$  mg até

35,31 ±3,74mg e, no tratamento com o óleo obtido em Cuba, o peso das larvas variou entre 26,72 ±2,67 mg e 34,79 ±3,87 mg.

Tanto no estudo realizado por Dutok (2015) quanto no realizado por Chil-Núñez (2017) houve uma variação do peso larval quando comparado aos grupos que receberam as drogas, porém, em Dutok (2015), ocorreu uma variação menor nos valores do peso larval. Possuindo valores de peso do controle de 32,40 ±3,80 mg muito próximo dos obtidos com o óleo essencial de *Laurus nobilis* de 31,9 ±5,5 para o controle puro e 30,3 ±5,3 para o controle com DMSO. As corroborações mostradas permitem afirmar que os valores de controle obtidos no presente estudo encontram-se dentro da faixa normal para a espécie *Lucilia cuprina*.

#### **4.2 Efeito do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre a duração do estágio larval de *Lucilia cuprina*.**

A **Tabela II** ilustra o efeito deste óleo sobre a duração do estágio larval de *L. cuprina*. No que se refere ao estágio larval, os grupos controle e controle com DMSO apresentaram uma média muito próxima, sendo de 4,3 dias e 4,2 respectivamente.

O intervalo de variância entre esses grupos também apresentou pouca variação sendo de 4 a 9 dias para o grupo controle e de 4 a 7 dias para o grupo controle DMSO e entre os grupos que receberam as concentrações 15 35 e 70 µg/µL o intervalo de variância foi o mesmo, pois as larvas abandonaram no mesmo dia. Também foi possível observar que os grupos que receberam as concentrações 15, 35 e 70 µg/µL apresentaram uma quantidade maior de dias em relação aos grupos controle (**Tabela II**).

No que se refere ao estágio larval, o resultado não corroborou com o trabalho de Greenberg e Szyska (1984), que observou que o estágio larval em seu trabalho durou entre 5,54 e 6,96 dias, sendo maior que os valores registrados neste estudo para os grupos controle e DMSO. Foi possível observar também que neste estudo a substância causou um retardo no estágio larval, corroborando o trabalho de Pinto et al. (2015), onde foi possível observar um retardo do estágio larval, porém com outra substância e não corrobora o estudo feito por Dutok (2015) com

*Pouteria mammosa*, que registrou uma duração do estágio larval entre 2 a 4 dias o que mostra uma pequena diferença desse estágio em relação a este estudo.

O estágio larval do grupo controle (sem a substância) durou em média 4,3 dias corroborando aos resultados encontrados por Dutok com *P. mammosa* (2015) e Chil-Núñez (2017) quando testou *Ocimum sanctum*, estudando sobre a mesma espécie, porém em condições diferentes (ambos usaram a temperatura de 25°C).

Em Chil-Núñez (2017), foi possível observar uma aceleração do desenvolvimento de *Lucilia cuprina*, não corroborando este estudo onde os grupos que receberam as drogas apresentaram uma média de sete (07) dias e sem intervalo de variância, pois todas as larvas maduras abandonaram a dieta no mesmo dia e provocando um retardo no seu desenvolvimento.

**Tabela II. Duração do estágio larval de *Lucilia cuprina*, expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis*, em condições de laboratório.**

Grupo (Tratamentos)	Estágio larval (dias)		
	$\chi \pm DP$		IV
Controle	4,3 $\pm$ 0,7	a	4-9
DMSO	4,2 $\pm$ 0,5	a	4-7
15 $\mu$ g/ $\mu$ L	7,0 $\pm$ 0	b	0
35 $\mu$ g/ $\mu$ L	7,0 $\pm$ 0	b	0
70 $\mu$ g/ $\mu$ L	7,0 $\pm$ 0	b	0

Sendo  $\chi$  a média, DP o desvio padrão e IV o intervalo de variação. Letras distintas indicam médias diferentes entre si, quando comparadas ao grupo controle.

#### **4.3 Efeito do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre o estágio pupal de *Lucilia cuprina*.**

Em relação ao estágio pupal do grupo controle e controle com DMSO, a média foi bem próxima ao trabalho de Greenberg e Szyska (1984), no qual o estágio pupal foi de 7 a 8 dias, pois a esses grupos apresentaram 8,2 e 8,6 dias respectivamente, com intervalo de variância de 7 a 10 dias para ambos. Dutok (2015) e Pinto et al. 2015 observaram em seus respectivos trabalhos um retardamento do desenvolvimento, o que não corrobora o nosso estudo já que nos grupos de 15, 35 e 70  $\mu$ g/ $\mu$ L onde houve uma pequena variação em relação aos grupos controle e DMSO, as médias foram 7,6; 7,4 e 7,5 dias, respectivamente e ambos obtiveram um

intervalo de variância de 7 a 8 dias, evidenciando assim uma pequena aceleração em relação aos grupos controle. Algumas moscas não chegaram a emergir e morreram antes (Figura 9 à Figura 12).

Chil-Núñez (2017) observou que o óleo essencial de *Ocimum sanctum*, substância usada em seu trabalho também provocou uma pequena aceleração no estágio larval desta espécie, corroborando este estudo as concentrações 75, 150 e 300 µg/µL não possuem informações sobre o estágio pupal por terem morrido nas primeiras 24h (Tabela III).

**Tabela III. Duração do estágio pupal de *Lucilia cuprina*, expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis*, em condições de laboratório.**

Grupo (Tratamentos)	Estágio Pupal (dias)		
	X ± DP		IV
Controle	8,2 ± 0,9	a	7 - 10
DMSO	8,6 ± 1,1	a	7 - 10
15 µg/µL	7,6 ± 0,4	b	7 - 8
35 µg/µL	7,4 ± 0,9	b	7 - 8
70 µg/µL	7,5 ± 0,9	b	7 - 8

Sendo  $\bar{x}$  a média, DP o desvio padrão e IV o intervalo de variação. Letras distintas indicam médias diferentes entre si, quando comparadas ao grupo controle.

#### **4.4 Efeito do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre o período neolarva-adulto de *Lucilia cuprina*.**

O período de neolarva a adulto (Tabela IV) não teve grande significância em relação aos grupos controle e DMSO, pois o intervalo de variância foi o mesmo (de 10 a 13 dias), porém a média e o desvio padrão teve pequenas diferenças, sendo de  $11,2 \pm 0,9$  para o grupo controle e  $11,6 \pm 1,2$  para o grupo DMSO e mesmo assim a significância não foi muito grande. Entretanto, as concentrações 15, 35 e 70 µg/µL apresentaram um aumento no período de neolarva a adulto (Figura 19 à Figura 27). Já as concentrações 75, 150 e 300 µg/µL não apresentam dados por não sobreviver à substância. Pinto et al. 2015 e Chil-Núñez 2017 observaram um retardo do desenvolvimento em seus trabalhos o que corrobora com este estudo onde também foi observado um retardo no período de neolarva a adulto comparando os grupos que receberam as concentrações com os grupos controle.

Segundo Mackerras (1933), indicou que o tempo total de desenvolvimento foi de 11 dias e segundo Greenberg e Szyska, a duração de ovo até adulto foi 14 a 15,1 dias. Os grupos controle puro e DMSO apresentaram uma média em dias de 11,2 e 11,6 respectivamente com intervalo de variância de 10 a 13 dias para ambos os grupos, porém não se pode dizer o mesmo para os grupos que receberam as drogas, pois o grupo que recebeu a dose de 15µg/µL apresentou uma média de 14,6 com intervalo de variância de 14 a 15 dias, 35 µg/µL teve uma média de 14,4 e 70 µg/µL com 14,8 e ambos tiveram um intervalo de variância entre 14 a 21 dias.

**Tabela IV. Duração do período de neolarva-adulto de *Lucilia cuprina*, expresso em dias, tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de uma espécie do gênero *Laurus nobilis*, em condições de laboratório.**

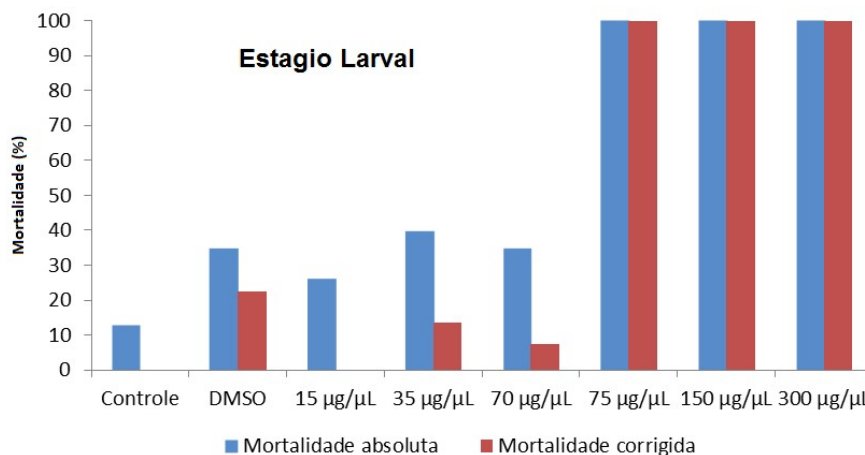
Grupo (Tratamentos)	Período neolarva a adulto (dias)		
	X± DP		IV
Controle	11,2 ± 0,9	a	10 - 13
DMSO	11,6 ± 1,2	a	10 - 13
15 µg/µL	14,6 ± 0,5	b	14 - 15
35 µg/µL	14,4 ± 1	b	14 - 21
70 µg/µL	14,8 ± 1	b	14 - 21

Sendo  $\bar{x}$  a média, DP o desvio padrão e IV o intervalo de variação. Letras distintas indicam médias diferentes entre si, quando comparadas ao grupo controle.

#### **4.5 Efeito do tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis* sobre a viabilidade de *Lucilia cuprina*.**

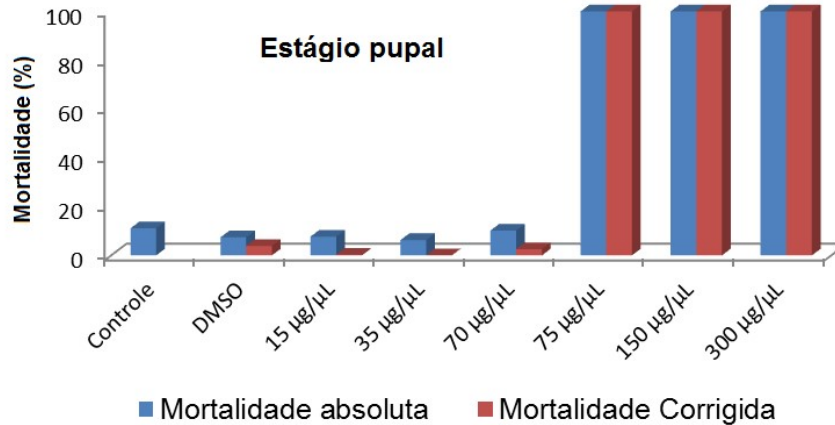
Em relação à mortalidade no estágio Larval a concentração de 15 µg/µL não causou morte nos indivíduos, mas causou algumas alterações morfológicas como as moscas que emergiram com asas atrofiadas, com ptlíneo não retraído e ausência de coloração característica da espécie. No grupo que recebeu a dosagem de 35 µg/µL, a mortalidade foi de 13,7% e para o grupo de 70 µg/µL a mortalidade foi de 7,4% (Figura 6). Chil-Núñez 2017 observou que em seu trabalho com *Ocimum sanctum*, que as concentrações menores causaram maior mortalidade no estágio larval com exceção apenas da concentração de 100% que causou alta mortalidade das larvas não corroborando com nosso estudo onde foi observado que as concentrações mais altas (75,150 e 300 µg/µL) causaram a mortalidade de 100% das larvas. Dutok 2015 também observou em seu trabalho com *Pouteria mammosa* que as concentrações

mais altas causaram maior mortalidade, porém a diferença na mortalidade foi pequena em relação às outras concentrações.



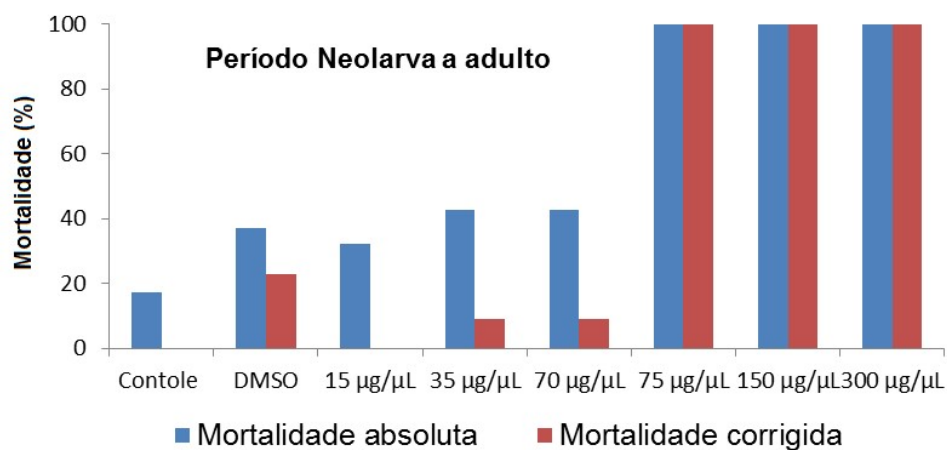
**Figura 6: Mortalidade estágio larval de *Lucilia cuprina* tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis***

Em relação à mortalidade no estágio pupal o grupo 15 µg/µL obteve uma mortalidade muito baixa, de apenas 0,32% e mesmo assim foi possível observar que algumas moscas que não emergiram, morreram antes de emergir (Figura 9 e Figura 10). No grupo que recebeu a concentração 35 µg/µL a substância não provocou morte nos indivíduos e para 70 µg/µL a mortalidade foi de 2,6% e também foi possível observar que algumas moscas morreram antes de emergir como se mostra nas Figura 11 e Figura 12. Também foi possível observar indivíduos que emergiram com asas atrofiadas, com ptlíneo retraído e com ausência de coloração característica da espécie (Figura 29). Este estudo não corrobora o trabalho de Chil-Núñez 2017, onde foi observado que a concentração que mais matou neste estágio foi a concentração intermediária (50%) ao contrario deste estudo onde a concentração que mais matou foi a mais alta (70 µg/µL) e também não corrobora o trabalho de Dutok 2015, que em seu trabalho com *Pouteria mammosa*, registrou que a maior mortalidade foi com uma das concentrações mais baixas (10%).



**Figura 7: Mortalidade estágio pupal de *Lucilia cuprina* tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis*.**

Em relação ao período de neolarva a adulto o grupo controle apresentou uma mortalidade corrigida de 17,1% e o grupo controle DMSO teve uma mortalidade de 37,1%. Dentre os grupos que receberam as concentrações, os grupos 35 e 70 µg/µL apresentaram como mortalidade corrigida 9,06%, enquanto que a dosagem de 15 µg/µL não provocou mortalidade nos indivíduos, Porém as concentrações 15, 35 e 70 µg/µL apresentaram um aumento no período de neolarva a adulto e emergiram com asas atrofiadas, ptilíneo não retraído, ausência de coloração normal da espécie (Figura 21 e Figura 26). Já as concentrações 75, 150 e 300 µg/µL apresentam letalidade para todos os insetos.



**Figura 8: Mortalidade período neolarva-adulto de *Lucilia cuprina* tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de *Laurus nobilis***

Os resultados deste estudo demonstram que a mortalidade provocada por o óleo essencial de *Laurus nobilis* é similar em potência à relatada por Deleito e Moya-Borja (2008) quando estudaram o efeito do óleo essencial de Nim (*Azadirachta indica*) sobre *L. cuprina*, onde observaram mortalidade com relação dose/efeito entre 35,7% (0,2 % V/V) e 98,2% (0,6% V/V).

No estudo de Pinto et al. (2015), a máxima concentração provocou cerca de 80% da mortalidade e a concentração mais baixa (5%), atingiu 60% de mortalidade, corroborando os resultados do presente estudo ressaltando a inexistência de uma relação direta entre a dose e a porcentagem de mortalidade.

#### **4.6 Alterações morfológicas encontradas na espécie *Lucilia cuprina* após o tratamento com óleo essencial de *Laurus nobilis***

Foi possível observar que nos grupos de 15, 35 e 70 µg/µL algumas alterações morfológicas severas, sendo que algumas com ausência de coloração, asas atrofiadas (Figura 28 e Figura 29), algumas não chegaram a emergir do pupário, morrendo antes de completar o ciclo (Figura 9 à Figura 12), o que corrobora o trabalho de Cabral et al. (2007) e também o trabalho de Mohamed et al. 2016, onde as mesmas alterações foram observadas, porém em outra espécie e com outra substância.





**Figura 9:** Pupa de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista lateral.



**Figura 10:** Pupa de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista dorsal.



**Figura 11:** Pupa de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis* vista frontal.



**Figura 12:** Pupa de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista lateral.



**Figura 13: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle puro, vista dorsal.**



**Figura 14: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle puro, vista lateral.**



**Figura 15: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle puro, vista frontal.**



**Figura 16: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle DMSO, vista dorsal.**



**Figura 17: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle DMSO, vista lateral.**



**Figura 18: Adulto de *Lucilia cuprina* do controle DMSO, vista frontal.**





**Figura 19: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis* em condições de laboratório.**



**Figura 20: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis* vista lateral.**



**Figura 21: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis* vista frontal.**



**Figura 22: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração 35  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista dorsal.**



**Figura 23: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 35  $\mu$ l do óleo essencial *Laurus nobilis* vista lateral.**





**Figura 24: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 35 µL do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista frontal.**



**Figura 25: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial de *Laurus nobilis*, vista dorsal.**



**Figura 26: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista lateral**



**Figura 27: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70  $\mu$ L do óleo essencial *Laurus nobilis*, vista frontal.**

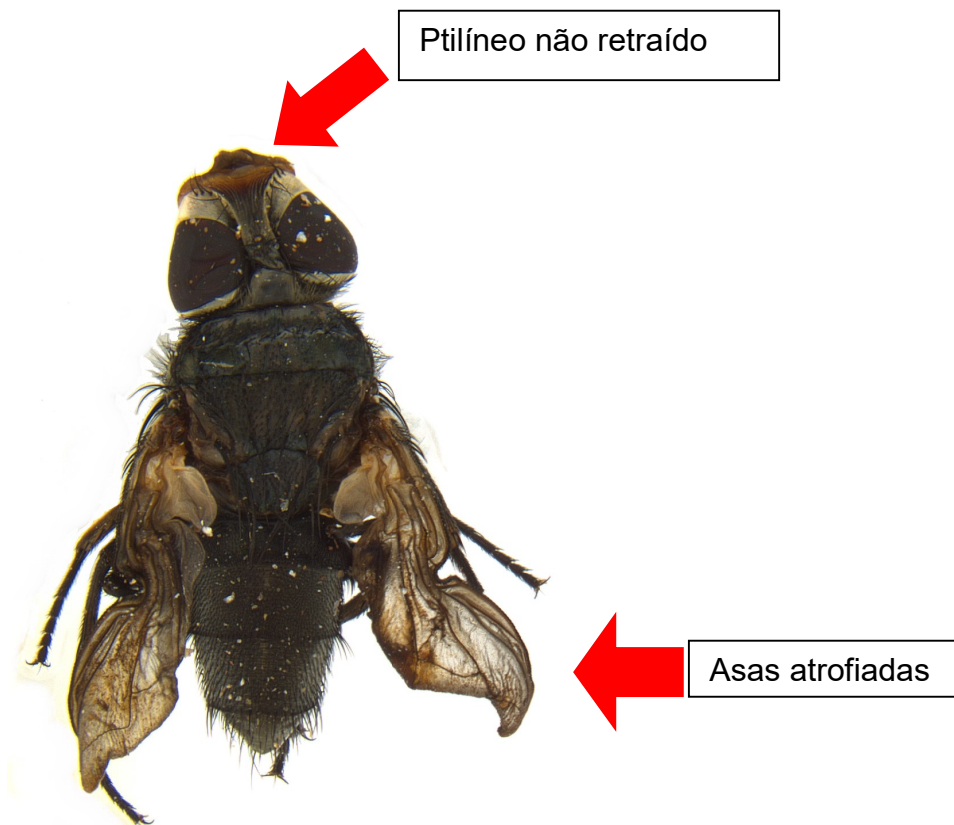


Figura 28: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 15 µL do óleo essencial *Laurus nobilis*, com alterações morfológicas e sem a fixação da cor esverdeada metálica.

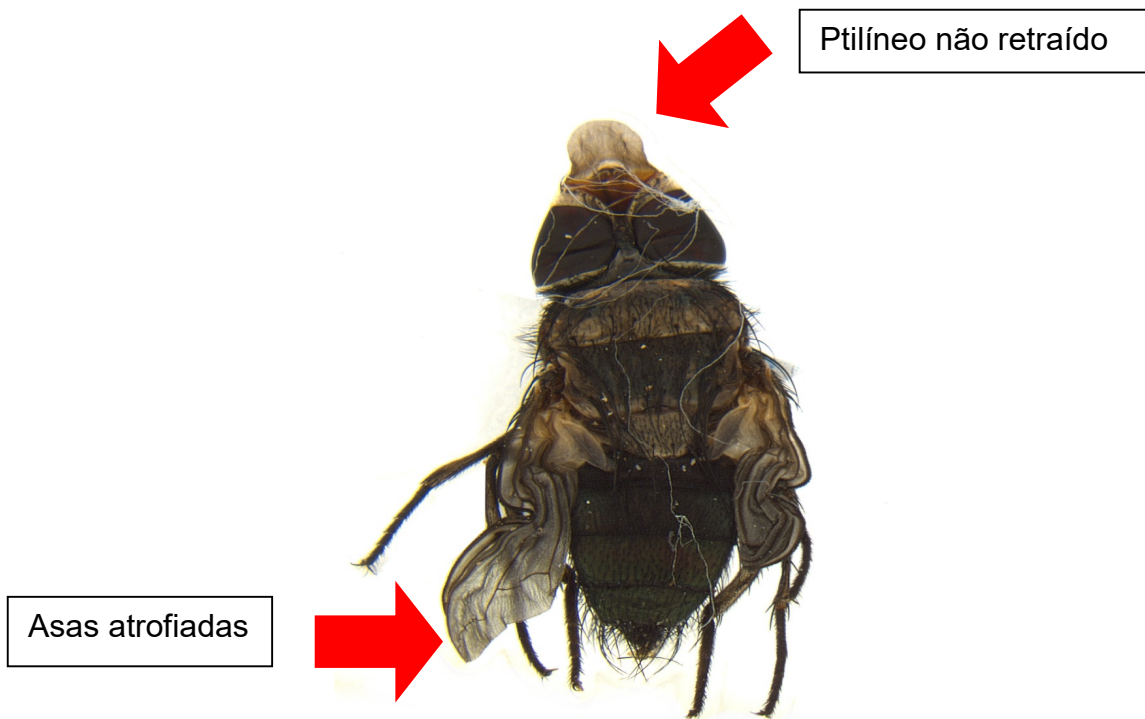


Figura 29: Adulto de *Lucilia cuprina* tratada com a concentração de 70 µL do óleo essencial *Laurus nobilis*, com alterações morfológicas e sem a fixação da cor esverdeada

## 5. CONCLUSÕES

1. O óleo essencial de *Laurus nobilis* teve efeitos sobre os estágios larval (acrescentado) e pupal (diminuído), de forma que houve uma influência no período total do desenvolvimento retardando em ao entorno de três dias a emergência quando comparado aos grupos controle;
2. O óleo essencial de *Laurus nobilis* altera o metabolismo das larvas de *Lucilia cuprina*, o que faz com que elas permaneçam mais tempo na dieta, podendo se alimentar mais e com isso ficarem mais pesadas;
3. O tratamento com o óleo essencial de *Laurus nobilis* nas concentrações 15, 35 e 70  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  causou diversas alterações morfológicas como: asas não infladas, ausência de coloração e ptlíneo não retraído nos adultos emergidos de *Lucilia cuprina* e este óleo essencial de *Laurus nobilis* nas concentrações 15, 35 e 70  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  também causou impossibilidade de saída do pupários, provocando a morte de uma elevada percentagem de moscas antes de completar o ciclo holometabólico;
4. As concentrações 75, 150 e 300  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  do óleo essencial de *Laurus nobilis* foram letais para as larvas do instar L1 de *Lucilia cuprina*, fazendo com que elas viessem morrer nas primeiras 24 h, conseqüentemente matando 100%.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade HTA, Varela-Freire AA, Batista MJA, Medeiros JF, Calliphoridae (Diptera) coletados em cadáveres humanos no Rio Grande do Norte. *Neotrop Entomol* 34 (5): 855-856. 2005.

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

Barros CF; Callado CH; Costa, CG; Puglialli, HRL; Cunha M; Marquete O. *Madeiras da Mata Atlântica*, Vol I.1a ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 86p. 1997.

Barroso GM; Guimarães EF; Ichaso CLF; Costa CG e Peixoto, A.L. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. v.1, 2 ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2002.

Barroso GM; Guimarães EF; Ichaso CLF; Costa CG; Peixoto, A. L. *Sistemática das Angiospermas do Brasil*. Voll. 1a ed. São Paulo, EDUSP, 255p. 1978.

Baumhover AH. Eradication of the screw worm fly. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 166: 240 - 248. blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera; Calliphoridae). *Aust. J. Zool.*, 38: 635- 648. 1990.

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. 337-383.

Benecke. *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Edited by Byrd JH & Castner. 2nd Ed. Chapter 20. CRC Press Taylor and Francis Group. 6000 Broken Sound Park Way Suite NW. Suite 300. Boca Raton Florida US. 2004.

Biavati GM, Santana FHA, Pujol-Luz, JR, A checklist of Calliphoridae blowflies (Insecta, Diptera) associated with a pig carrion in Central Brazil. *J Forensic Sci* 55 (6), 1603-1606. 2010.

Borror D.J; Triplehorn CA; J, Johnson F. *An introduction to the study of insects*. 7.ed. Philadelphia: Saunders College Publishing. 2005.

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

Buss EA & Park-Brown SG. Natural products for insect pest management. IFAS Extension, University of Florida. 2006:6.

Buzzi JZ. (1994) Coletânea de nomes populares de insetos do Brasil, edição do autor, Curitiba, Paraná, 230 p. DEAR, J. P. A revision of the New World Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae) Rev. Bras. Zool. 3: 109-169. 1985.

Brechelt A. O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças. Rio Grande do Sul Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor, 2004.

Byrd JH e Castner JL, Insects of forensic importance, p. 43-79. In: Byrd JH e JL. Castner (Eds), Forensic Entomology: The utility of Arthropods in Legal Investigations, CRC press, Boca Raton, 418p. 2001.

Cabral, MMO; Mendonça PM.; Gomes CMS.; Barbosa Filho JM.; Dias CS ; Soares MJ.; Queiroz MMC. Biological activity of Yangambin on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala* Fabricius, 1794 (Diptera: Calliphoridae). Journal of Medical Entomology, Maryland - Estados Unidos, v. 44, n.4, p. 249-255. 2007.

Cabral MMO, Mendonça PM, Gomes CMS, Barbosa Filho JM, Queiroz MMC, Mello RP. Biological activity of neolignans on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala*. Fitoterapia. 2007a. 78: 20-24.

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). Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2008. 18 (Supl.): 699-702.

Carvalho, CJB, Couri MS, Rafael, JA, Silva, VC Diptera. In: Rafael, J.A., Melo GAR, Carvalho, C.J.B., Casari, S.A., Constantino, R. (Eds.), Insetos do Brasil – Diversidade e Taxonomia. Holos Editora, São Paulo. pp. 701–743. 2012.

Chil Núñez I. Segurança e Eficácia do Óleo Essencial de *Ocimum sanctum* L. Var. *Cubensis* Para o Controle de Dípteros Muscoides. Doutorado em Biodiversidade e Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Oswaldo Cruz. 2017.

Coe-Teixeira, B. Lauráceas do gênero *Ocotea* do estado de São Paulo. Rodriguésia, v. 32, n. 52, p. 55 – 190. 1980.

Costa C. e Ide S., Importância e significado taxonômico e filogenético dos caracteres dos imaturos de Insecta em especial dos Coleoptera. In: Contribuciones taxonômicas

en órdenes de insectos hiperdiversos. 1a Ed. México, D.F.: UNAM, RIBES-CYTED, v.1, p. 37-55. 2008.

Costa, C., Ide S. Simonka CE, Insetos Imaturos: metamorfose e identificação. Ribeirão Preto: Holos, Editora. 249p. 2006.

Cronquist A. The Evolution and classification of flowering plants. 2 nd ed. New York, New York Botanical Garden, 517p. 1988.

Dutok CMS. Segurança e eficácia de extratos obtidos de *Pouteria mammosa* (L.) cronquist para o controle de dípteros muscoides. Doutorado em Biodiversidade e Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Oswaldo Cruz. 2015.

Eldridge, BF; Edman, JD. Medical Entomology: A Textbook on Public Health and Veterinary Problems Caused by Arthropods. Dordrecht: Kluwer, 2000. 663 p.

Entomologia Forense - Quando os insetos são vestígios. 2ª ed. Campinas, SP: Millenium. 2008. 420p.

Feinstein L. Insecticides from plants. In: Insects: The Year Book of Agriculture. U.S.D.A, Washington, DC. 1952: 229.

Francesconi F & Lupi O. Myiasis. Clinical Microbiology Reviews. doi:10.1128/CMR.00010-11. 2012 Jan. 25(1): 79-105.

FUNASA. Controle de Vetores: procedimentos de segurança. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

Gemballa G. Contribuição para a caracterização da essência de "Ocotea pretiosa Mez': Rio de Janeiro, s. ed. 181 p., il, 1955.

Gottlieb OR. Chemosystematics on the Lauraceae .Phytochemistry 11(5): 1537-1570. 1972.

Greenberg B. Flies and Disease: Biology and disease transmission. Princeton Univ. Press. Princeton, NJ. 1973. 2: 447.

Greenberg B. Flies and disease: Ecology, classification and biotic association. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ. 1971. 1: 856.

Guimarães JH; Tucci EC.; Barros-Battesti, DM. Ectoparasitos de importância veterinária. São Paulo: Plêiade/fapesp, 218 p. 2001.

Guimarães JH & Papavero N. Myiasis Caused by Facultative Parasites. In: Myiasis in man and animals in the Neotropical Region. Plêiade, Bibliographic database, São Paulo. 1999: 35.

Imms, A. D., A General Textbook of Entomology. 9ª Ed. London: Methuen & CO LTD. 886p. 1957.

Klein RM. Importância e fidelidade das Lauráceas na "Formação Araucária" do Estado de Santa Catarina. Insula, (7): 1-19. 1974.

Kosmann, C. Mello RP, Harterreiten-Souza E S , Pujol-Luz JR, A list of current valid blow fly name (Diptera: Calliphoridae) in the America South of Mexico with key to the Brazilian species. Entomobrasilis 6 (1), 74-85. 2013.

Kostermans AJGH. Revision of the Lauraceae, II. The genera Endlicheria, Cryptocarya (American species) and Licaria. Rec. Trav. Bot. Neerl., 34: 50-609. 1937.

Lenko, K e N. Papavero. Insetos no Folclore. 2a. ed. rev. ampl., São Paulo, Plêiade, Fapesp, 468 p. Manual of Nearctic Diptera. Vol 2. Ottawa, Monograph/Agriculture Canada, 657p. 1996.

Marcondes, C. B. Entomologia médica e veterinária. São Paulo: Atheneu. 432 p. 2001

Mariconi, FAM, Guimarães JH e Filho EB. A mosca doméstica e outras moscas nocivas. Piracicaba: Fealq, 135 p., 1999. Marques CA. Importância econômica da família Lauraceae. Floresta e Ambiente. 8: 195-206. 2001.

Mello RP. Contribuição ao estudo do gênero *Phaenicia* R.-D., 1863 (DIPTERA, CALLIPHORIDAE). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1961. 59(3): 259-278.

Mello RP. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. Entomologia y Vectores, Rio de Janeiro. 2003. 10(2): 255-268.

Mendonça PM, Lima MG, Albuquerque LRM, Carvalho MG & Queiroz MMC. Effects of latex from "Amapazeiro" *Parahacornia amapa* (Apocynaceae) on blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) post-embryonic development. Veterinary Parasitology. 2011. 178:379-382



Mohamed HS, Fahmy MM, Attia MM, El Khateeb RM, Shalaby HA, Massound AM. The insecticidal of two plants (*Commiphora molmol*) and (*Balanites aegyptiaca*) against the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae)

Moretti TC; THYSSEN, P. J. Mífase primária em coelho doméstico causada por *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil: relato de caso. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, [s.i], v. 58, p.28-30, 2006.

Neves DP Parasitologia Humana. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.

Norris KR. Evidence for the multiple exotic origin of Australia populations of sheep Old and New Worlds (part I): phylogenetic analyses. Tren. Paras., 22: 129-136, 2006.

Oliveira-Costa J & Queiroz MMC. Bionomia de Dípteros de Interesse Forense. In: Janyra de Oliveira-Costa. (Org.). Entomologia Forense - Quando os insetos são Vestígios. 2ed. Campinas, SP: Millenium. 2007. 1: 197-218.

Oliveira-Costa J. Entomologia Forense – Quando os insetos são vestígios. Campinas: Millennium. ISBN: 85-7625-001-2. 2003.

Paes, MJ, Brito LG, Moya-Borja GE, Daemon E. Comportamento reprodutivo e longevidade de casais isolados e agrupados de *Lucilia cuprina*, sob condições controladas. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 14, 1, 21-25. 2005.

Pessanha RR, Carramaschi IN, dos Santos Malet JR, Queiroz MMC & Zahner V. Evaluation of larvicidal activity and effects on post embryonic development of laboratory reared *Lucilia cuprina* (Wiedemann 1830) (Diptera: Calliphoridae), treated with *Brevibacillus laterosporus*. Journal of Invertebrate Pathology. 2015. 128: 44-46.

Peterson A,. Larvae of insects: Coleoptera, Diptera, Neuroptera, Siphonaptera, Mecoptera, Trichoptera. Part II. Ohio State University. Columbus 395p. 1960.

Pinto ZT, Fernández Sánchez F, Santos AR, Amaral ACF, Ferreira JLP, Escalona-Arranz JC & Queiroz MMC. Effect of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) oil and citral on post-embryonic time of blowflies. Journal of Entomology and Nematology. 2015.

Quinet A, Andreatta RHP. *Lauraceae Jussieu na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, município de Nova Friburgo. Rio de Janeiro, Brasil. Rodriguesia, Rio de Janeiro, 53: 59pp. 2002.*

Rey L Parasitologia. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 888 p

Rizzini CT Plantas do Brasil: Árvores e madeiras úteis do Brasil; Manual de dendrologia brasileira. São Paulo, Edgar Bliicher/Edusp. 294p. 1979.

Ritter L, Solomon KR, Forget J, Stemeroff M & O'leary C. A. Review of Selected Persistent Organic Pollutants. Draft Interim Report: International Program on Chemical Safety, WHO, Geneva, Switzerland, 1995.

Roel AR. Utilização de Plantas com Propriedades Inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Revista Internacional de Desenvolvimento Local, 2001, 1(2):43-50.

Sethajintanin D & Anderson KA. Temporal bioavailability of organochlorine pesticides and PCBs. Environ. Sci. Technol. 2006. 15: 3689-3695.

Shewell GE, Calliphoridae, 1113-1145 p. In: McAlpine, J.F., PETERSON, B.V., Shewell, GE, Teskey, HJ, Vockeroth, JR, e Wood DM (Eds). 1987.

Skevington JH e Dang PT, Exploring the diversity of flies (Diptera). Biodiversity 3 (4): 3-27. 2002.

Stevens JR e Wallman JF The evolution of Myiases in humans and other animal in the Old and New Worlds (part I): phylogenetic analyses

Sukontason KL, Narongchal P, Sripakdee D, Boonchu N, Chaiwong T, Ngern-Klun R, Piangjai S, Sukontason K. First report of human myiasis caused by *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Thailand, and its implication in forensic entomology. Journal of Medical Entomology. 2005. 42: 702–704.

Sukontason, K, Narongchai P, Kanchai C, Vichairat K, Sribanditmongkol P, Bhoopat T, Hiromu K, Chockjamsai M, Piangjai S, Bunchu N, Vongvivach S, Samai W, Chaiwong T, Methanitikorn R, Ngern-Klun, R, Sripakdee D, Boonsriwong W, Siri wattanarungsee S, Srimuangwong C, Hanterdsith B, Chaiwan K, Srisuwan C, Upakut S, Moopayak K, Vogtsberger RC, Olson JK, Sukontason KL. 2007. Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 Parasitol. Res. 101(5), 1417-1423. 2006.

Thompson FC. *The Diptera site*. The biosystematic database of world Diptera. Nomenclator status statistics. Version 10.5

[www.sl.barc.usda.gov/diptera/names/Status/bdwdstat.htm](http://www.sl.barc.usda.gov/diptera/names/Status/bdwdstat.htm) Acesso em maio 2015, 2008.

Thyssen PJ, Moretti TDC, Ueta MT, Ribeiro OB. O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. *Cadernos de Saúde Pública*, [s.i], v. 20, p.1096-1102, 2004.

Van Emden H. F, Peakall D. B. *Beyond Silent Spring: Integrated pest management and chemical safety*. Springer. 1996: 320.

Vargas J e Wood DM, Calliphoridae, p. 1297-1304. In: Brown, B.V., Borkent A., Vumming JM, Wood DM, Woodley NE. e Zumbado MA, (eds). *Manual of Central American Diptera*. Vol. 2. Canada, ontario, NCR Research Press, 728p. 2010.

Vieira PC, Mafezoli J & Biavatti MW. Inseticidas de Origem Vegetal. In: Ferreira, J. T. B.; Corrêa, A. G.; Vieira, P. C. (org.). *Produtos Naturais no Controle de Insetos*. 1ª ed. São Carlo: Editora da UFSCar. 2001. Cap. 2: 23 – 45

Visciarelli E; Costamagna S; Lucchi, L; Basabe N. Human myiasis in Bahía Blanca, Argentina: periodo 2000/2005. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 36, n. 1, p. 605-611, 90. 2007.

Werff H. Wan Der e Richter HG. Toward and improved classification of Lauraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 8, p. 419 – 432, 1996.

Wiegmann BM, Trautwein MD, Winkler IS, Barr NB, Kim JW, Lambkin C, Bertone MA, Cassel BK, Bayless KM, Heimberg AM, Wheeler BM, Peterson KJ, Pape T, Sinclair BJ, Skevington JH, Blagoderov V, Caravas J, Kutty SN, Schmidt-Ott U, Kampmeier GE, Thompson FC, Grimaldi DA, Beckenbach AT, Courtney GW, Friedrich M, Meier R, Yeates DK. Episodic radiations in the fly tree of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011. 108: 5690-5695.

Yeates DK.; B.M.Wiegmanni; G.W.Courtney R.Meier C.Lambkin e T.Pape Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. **Zootaxa** 1668:565-590. 2007.

Zumpt F. Myiasis in man and animals in the Old World. Butterworths, London. 1965.

# ANEXOS

## Anexo I. Tabela de registro de dados primários utilizada na avaliação de substâncias e extratos para controle alternativo de dípteros.

AVALIAÇÃO DIPTERA DOSE:  REPETIÇÃO:   
 ESPÉCIE:  TRATAMENTO:   
 DATA ESTÍMULO POSTURA:  DATA DE ECLOSÃO DAS LARVAS (L1):

LARVA	Peso larva em Instar L3 (mg)	Data abandono da dieta (L3)	Data da pupação	Data emerge adulto	Sexo	OBSERVAÇÕES	Estágio L1-L3 (Dias)	Estágio L3 a Adultos (Dias)	Tempo Neo-Adu (Dias)
		Dia / Mês	Dia / Mês	Dia / Mês					
01									
02									
03									
04									
05									
06									
07									
08									
09									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									
33									
34									
35									
36									
37									
38									
39									
40									
41									
42									
43									
44									
45									
46									
47									
48									
49									
50									

**Legenda para a coluna observações e sexo:** LMV → Larva Morta na Vermiculita; LMT → Larva Morta no Tubo de ensaio; LMC → Larva Morta na Carne; PV → Pupa na Vermiculita; PC → Pupa na carne; NE → Não Emergiu; ME → Morreu Emergindo; EMF → Emergiu com Malformação. F → Fêmea; M → Macho; ? o \* → Sexo duvidoso. **(Colocar sempre a data ao lado das siglas).**