

Estudo *in vitro* da eficácia do Limoneno sobre *Bovicola ovis* (Schrank, 1781)

Submissão: 14/04/2025

Aceite: 16/07/2025

Juliane Nayra Dantas Silva¹, Ruana Rafaela Lira Torquato Paiva², Caio Michel de Moraes Rolim³, Antônia Aniellen Raianne Moisés Aguiar⁴, Maria Heloisa Pontes de Souza⁵, Fernando Lucas Monteiro Medeiros⁶, Josevania Noronha Maia⁷, Aksa Ingrid Vieira Batista⁸, Wesley Adson Costa Coelho⁹, Weibson Paz Pinheiro Andre¹⁰, Tainá Gabrielle de Melo Medeiros¹¹ Josivania Soares Pereira¹²

¹Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8226-4285>

²Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6992-7598>

³Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9992-506X>

⁴Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1273-5501>

⁵Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5924-1018>

⁶Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1978-8224>

⁷Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil, ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5277-217X>

⁸Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0696-7194>

⁹Faculdade de Enfermagem e de Medicina Nova Esperança (FACENE), Mossoró, RN, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7039-9481>

¹⁰UNINT, Fortaleza/CE, Brasil, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9079-6791>

¹¹Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, ORCID: Brasil, <https://orcid.org/0009-0000-5506-560>

¹²Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, ORCID: Brasil, <http://orcid.org/0000-0001-8226-4285>

Autora para correspondência: Juliane Nayra Dantas Silva – julianenayra.juli@gmail.com

Resumo: Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia *in vitro* do limoneno sobre piolhos *Bovicola ovis*. Para isso, 900 piolhos foram distribuídos entre diferentes grupos experimentais e expostos às concentrações de 800, 400, 200, 100, 50, 25 e 12,5 mg/ml do limoneno. Como controle positivo (CP), foi utilizada a cipermetrina, enquanto o grupo não tratado (GNT), não recebeu tratamento. A eficácia do limoneno foi analisada utilizando o software estatístico SPSS versão 23.0. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão, e as concentrações efetivas para 50% (CE₅₀) e 90% (CE₉₀) foram determinadas com um intervalo de confiança de 95%. Ocorreu mortalidade dos piolhos em todos os grupos experimentais e tempos testados e a partir da primeira até a terceira hora do experimento, as concentrações de 800, 400 e 200 mg/ml demonstraram eficácia igual na eliminação dos parasitos, que foi superior em comparação com as demais concentrações testadas. As concentrações de 50, 25, 12,5mg/ml e grupo não tratado (GNT), obtiveram a menor eficácia mesmo após 24 horas de teste, e o controle positivo (GCP) demonstrou eficácia semelhante às das concentrações de 800, 400 e 200 mg/ml do limoneno, a partir da terceira hora de ação. A concentração efetiva (CE) média do limoneno foi obtida após 6 horas do experimento, e correspondeu a 170,9 mg/ml e 331,3 mg/ml para CE₅₀ e CE₉₀, respectivamente. Com isso, o limoneno demonstrou eficácia *in vitro* contra *B. ovis*, indicando seu potencial como alternativa aos ectoparasiticidas convencionais.

Palavras-chaves: ectoparásito; ovinos; piolho; produtos naturais; resistência parasitária.

1. Introdução

As doenças parasitológicas representam um desafio econômico significativo para a produção mundial de ruminantes, principalmente devido à ineeficácia das práticas de manejo sanitário no controle desses parasitas, resultando em perdas na produtividade dos animais afetados. Na maioria das vezes, essas doenças podem desencadear inúmeras enfermidades, e tendem a levar os animais a sérios problemas de saúde, incluindo a letargia seguida de morte (Cruz *et al.*, 2023 e Andrade *et al.*, 2020).

Dentre os tipos de enfermidades, há as causadas por ectoparasitos, como sarna, miíase e pediculose (Bezerra *et al.*, 2010). Com isso, os estudos apontam *Bovicola ovis* (Schrank, 1781) como uma espécie de grande interferência que acomete ovinos (Colvin *et al.*, 2022 e Duarte *et al.*, 2023). Esse parasita é considerado piolho específico de ovelhas, que possui três fases de vida bem definidas, sendo elas: ovo, ninfa e adultos. Os sintomas normalmente ocasionados aos animais vão desde a irritabilidade, perda de apetite, descamação da pele e prurido intenso, e rotineiramente esses sinais levam ao surgimento de lesões cutâneas e favorecem o aparecimento de infecções secundárias (Retore e Correa, 2015).

Para controle do parasita *B. ovis*, o uso de fármacos químicos é constante nas propriedades. Entretanto, a utilização indiscriminada dos inseticidas tem contribuído para o surgimento da resistência parasitária. Alguns estudos, a exemplo o de Colvin *et al.* (2022) evidenciaram menor ação dos químicos classificados como reguladores de crescimento de insetos; seguidos dos organofosforados, piretróides sintéticos e neonicotinoides contra *B. ovis* ao longo dos anos (Cruz *et al.*, 2023).

Em busca de alternativas para controle desta espécie nos rebanhos, as pesquisas utilizam o conhecimento popular sobre produtos naturais com efeitos medicinais, onde é realizado testes para avaliar a eficácia destes produtos como antiparasitário para uso fitoterapêutico (Dutra *et al.*, 2024). A utilização de óleos essenciais, por exemplo, ganhou destaque nos estudos por apresentar efeito promissor na ação antimicrobiana, inseticida, a exemplo de *B. Ovis* (Rolim *et al.*, 2023; Aguiar *et al.*, 2021 e Brudniewski *et al.*, 2020). Dentre esses óleos, aqueles que apresentam o limoneno como constituinte majoritário têm se mostrado particularmente eficazes, despertando interesse para investigações mais direcionadas (Visakh *et al.*, 2022; Gupta, Singh e Reddy, 2025). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia *in vitro* do limoneno sobre o piolho *Bovicola ovis*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Aquisição do composto Limoneno e diluição do óleo

O (R)-(+)-Limoneno (Sigma®-Aldrich, St. Louis, MO, EUA; CAS: 5989-27-5) foi utilizado no experimento, com grau de pureza de 97%. O composto foi diluído em Tween 80 a 3% para gerar as concentrações testadas.

2.2. Animais, coleta e identificação dos piolhos

Foram utilizados 3 animais da espécie *Ovis aries* Linnaeus (1758), infestados naturalmente com piolhos *Bovicola ovis* (Schrank, 1781) provenientes do Núcleo de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró/RN. Os ovinos usados independiam da idade, sexo e raça. O procedimento de coleta dos piolhos ocorreu de forma manual e com ajuda de pente fino com os animais contidos de forma mecânica. Os piolhos foram coletados entre 7 a 9:30 horas da manhã, em seguida acondicionados em recipientes e encaminhados ao Laboratório de Parasitologia Animal (LPA) da UFERSA para identificação pela morfologia, segundo Guimarães *et al.* (2001). O início do teste ocorreu no horário de 10:30 da manhã. Todos os procedimentos de manipulação com os animais seguiram as normas estabelecidas pela Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da UFERSA (CEUA-UFERSA), sob número de parecer CEUA de aprovação 18/2021.

2.3. Delineamento experimental (Teste *in vitro*)

Para o experimento foram montados nove grupos experimentais com os seguintes tratamentos: 800, 400, 200, 100, 50, 25 e 12,5mg/ml de limoneno, grupo controle negativo (GCN) (sem tratamento, piolhos distribuídos em condição de ambiente, fora do hospedeiro), grupo controle positivo testados com cipermetrina a 3,7% (Cypermetril®, UCBVET, Brasil). Para cada grupo, foram realizadas quatro repetições, sendo considerada como unidade experimental uma placa de Petri contendo 25 piolhos adultos *B. ovis* distribuídos de forma homogênea, por placa. Ao todo, 900 espécimes de piolhos adultos foram utilizados e aleatoriamente distribuídos em 36 placas. As análises *in vitro* foram conduzidas no LPA. Os parasitos foram imersos durante 2 minutos em 2ml dos tratamentos mencionados, utilizando a técnica adaptada de Heukelbach *et al.*, (2008). Logo após, cada grupo foi retirado e direcionado as placas de Petri forradas com papel filtro e lá permaneceram por 24 horas. A mortalidade foi observada utilizando estereomicroscópio após 1, 3, 6 e 24 horas do início do teste. Foram considerados mortos os piolhos que apresentaram ausência total de movimentos, após estímulos mecânicos aplicados em toda a estrutura corpórea (França *et al.*, 2021).

2.4. Análise estatística

A eficácia do limoneno foi calculada de acordo com a fórmula da mortalidade dos piolhos (%) = [nº de piolhos mortos/ (nº de piolhos vivos + nº de piolhos mortos) x 100]. Os dados foram expressos em valores de média ± desvio padrão através do programa estatístico SPSS versão 23.0. Após análise dos pressupostos não paramétricos, diferenças estatísticas dos grupos experimentais dentro e entre tempos estudados (1 a 24 horas) foram obtidas através dos testes de Kruskal-Wallis e Friedman, respectivamente. Para obtenção dos valores das concentrações efetivas para inibir 50% (CE₅₀) e 90% (CE₉₀) da população de piolhos após 6 horas de exposição, realizou-se o teste de Regressão de Probit. O nível de significância estabelecido foi de 5% ($p<0,05$).

3. Resultados

3.1. Eficácia Média do limoneno sobre *Bovicola ovis*

Ocorreu mortalidade dos piolhos em todos os grupos experimentais e tempos testados (Tabela 1).

Grupos experimentais (mg/ml)	Tempos testados			
	1h	3h	6h	24h
800	100,0 ± 0,0 ^{Aa}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}
400	99,0 ± 2,0 ^{Aa}	99,0 ± 2,0 ^{Aa}	99,0 ± 2,0 ^{Aa}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}
200	76,0 ± 25,5 ^{Aa}	74,6 ± 31,1 ^{Aa}	81,0 ± 28,4 ^{Ba}	92,0 ± 16,0 ^{Aa}
100	16,0 ± 15,3 ^{Bc}	28,0 ± 5,6 ^{Bbc}	46,0 ± 16,8 ^{Cb}	83,0 ± 10,5 ^{ABA}
50	18,0 ± 16,1 ^{Bb}	24,0 ± 14,6 ^{Bb}	38,0 ± 23,2 ^{Cb}	63,0 ± 28,5 ^{Ba}
25	8,0 ± 5,6 ^{Bc}	13,0 ± 3,8 ^{Bc}	24,0 ± 7,3 ^{Cc}	67,0 ± 13,2 ^{Bb}
12,5	10,0 ± 5,1 ^{Bc}	15,0 ± 6,0 ^{Bc}	34,0 ± 12,0 ^{Cc}	76,0 ± 6,5 ^{Bb}
GNT	2,66 ± 2,31 ^{Cb}	13,3 ± 16,16 ^{Bb}	25,33 ± 14,04 ^{Cb}	69,33 ± 12,85 ^{Ba}
CP	42,0 ± 23,2 ^{Bb}	67,0 ± 20,5 ^{Ab}	84,0 ± 11,7 ^{ABab}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}

Tabela 1 – Eficácia média ± desvio padrão do limoneno sobre *Bovicola ovis* no decorrer de 1h, 3h, 6h e 24h e entre as diferentes concentrações estudadas.

Letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas diferentes na linha indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de comparação múltipla adotado ($p<0,05$). GNT: grupo não tratado; GCP: controle positivo com cipermetrina.

Durante a primeira, terceira e sexta hora de exposição dos piolhos *Bovicola. ovis* ao limoneno, as concentrações de 800 e 400 mg/ml demonstraram maior eficácia na eliminação dos parasitos, superando as doses de 100, 50, 25, 12,5mg/ml e grupo não tratado. A concentração de 200 mg/ml apresentou eficácia semelhante às concentrações de 800 e 400 mg/ml nesses períodos, exceto na sexta hora de ação, pois apresentou a segunda maior taxa de letalidade dos piolhos. Com 24 horas de ação, as concentrações de 50, 25,

12,5mg/ml e grupo não tratado (GNT), permaneceram com mortalidade dos piolhos inferior aos que foram submetidos às doses de 800, 400 e 200 e 100 mg/ml, e não atingiram eficácia acima de 76% (Taleça 1).

3.2. Eficácia Média do limoneno sobre *Bovicola ovis*

Ao avaliar os resultados da concentração efetiva (CE) média, 170,9 mg/ml do limoneno inibiu 50% (CE50) dos piolhos, enquanto 331,3 mg/ml do composto inibiu 90% (CE90) (Tabela 2).

Concentração Efetiva (mg/ml)	Mínima	Máxima	Média
CE ₅₀	139,2	213,6	170,9
CE ₉₀	274	429,8	331,3

Tabela 2 – Valores da CE50 e CE90 do composto limoneno sobre *Bovicola ovis* com 6 horas de exposição ao Limoneno.

Regressão de Probit: Intervalo de confiança (IC - 95%).

CE: concentração efetiva

4. Discussão

Os óleos essenciais constituídos majoritariamente por limoneno exercem efeitos de toxicidade fumigante, repelência, dissuasão e oviposição (Visakh *et al.*, 2022; Gupta, Singh e Reddy, 2025). A eficácia inseticida do limoneno vem sendo relacionada a sua ação nas enzimas AChE (acetilcolinesterase) e GST (glutationa S-transferase), consideradas alvos de ação inseticida em piolhos (*Columbicola columbae*) e besouros (Gupta, Singh e Reddy, 2025; Gadelhaq *et al.*, 2022). Especificamente, segundo Gadelha *et al.* (2022), o efeito pediculicida do limoneno está relacionado ao estresse oxidativo, onde possivelmente atua na inibição da função neuromuscular da AChE pelo acúmulo de acetilcolina, a qual resulta em contrações musculares e colapso, causando morte e alteração na estrutura morfológica de piolhos mastigadores, a exemplo de *Columbicola columba*.

No presente estudo, a letalidade total (100%) dos piolhos foi observada quando se utilizou as concentrações de 800 mg/ml e 400 mg/ml, na primeira hora e com vinte e quatro horas de teste, respectivamente (Tabela 1). Em piolhos mastigadores *C. columba*, o composto apresentou letalidade completa (100%) com 2 horas de tratamento *in vitro* para a concentração de 30mg/ml (Gadelhaq *et al.*, 2022). Assim, concentrações mais elevadas de limoneno e períodos de exposição mais prolongados foram necessários para um maior quantitativo de piolhos mortos (*B. ovis*), podendo essa condição ser acarretada por menor efeito do limoneno sobre a espécie *B. ovis* (Tabela 1).

Contudo, ação semelhante na estrutura morfológica dos piolhos em resposta à ação do composto foi vista nesta pesquisa e nos estudos de Gadelha *et al.* (2022). Ambas as espécies de piolhos *B. ovis* e *C. columba*, foram identificadas com deformações severas, incluindo distorções e perda das garras em forma de gancho.

Em outros insetos, o limoneno apresentou efeito inibitório na eclosão de ovos de moscas, *Haematobia irritans irritans*, de 47,8% e 97,8% em concentrações de 5,8% e 11,6% Showler *et al.* (2019). Além disso, apresentou atividade repelente sobre o besouro *Callosobruchus maculatus*, com uma concentração de repelência (CR₅₀) de 359,55 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ após 24 horas de exposição, e sobre *Callosobruchus chinensis*, com CR₅₀ de 481,32 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ (Gupta, Singh e Reddy, 2025). Além de servir como quimiotactismo positivo, atraiendo *Aphytis melinus*, inseto amplamente utilizado no controle biológico de cochonilhas em plantas (Mohammed *et al.*, 2020).

Quanto ao controle positivo, esse demonstrou eficácia semelhante às concentrações de 800, 400 e 200 mg/ml do limoneno, a partir da terceira hora de ação (tabela 1). A mortalidade dos piolhos obtida na presente pesquisa em resposta a ação da cipermetrina indicou sensibilidade de *B. ovis*, uma vez que a droga matou 100% dos piolhos em apenas 24 horas de teste (Tabela 1). Quando Duarte *et al.* (2023) avaliaram a eficácia *in vitro* da cipermetrina a 15% em piolhos da mesma espécie, não houve letalidade 100% para os parasitos, sendo elas de 15,2; 21,6; 54,4; 90,4 e 92 para as horas 1, 3, 6, 24 e 48.

B. ovis apresentou tempo de vida fora do hospedeiro semelhante aos dos estudos de Duarte *et al.*, (2023). No grupo não tratado, a mortalidade dos piolhos *B. ovis* foi alta com vinte e quatro horas de teste, que foi de 69% e 53,6% nesta pesquisa e nos experimentos de Duarte *et al.* (2023), respectivamente (Tabela 1). Todavia, o piolho *C. columba* não apresentou mortalidade (0%) com 24 horas de teste (Gadelhaq *et al.*, 2022). Possivelmente essa condição se deu pelo piolho *B. ovis* possuir menor resistência fora do hospedeiro para sobrevivência quando comparado ao *C. columba*.

Diversos estudos têm investigado a CE de substâncias naturais no controle de piolhos *B. ovis* em ovinos. Na pesquisa de Aguiar *et al.* (2019), por exemplo, a concentração efetiva para atingir 90% de letalidade (CE90) do óleo de semente de *Carapa guianensis* sobre *Damalinia (Bovicola) ovis* foi de 807,09 mg/mL. Já Rolim *et al.* (2023) e França *et al.* (2021) obtiveram CE90 para os óleos de *Eucalyptus globulus* e *Lippia gracilis* de 118,18 mg/mL e 44,9 mg/mL, respectivamente. Apesar de o presente estudo apresentar CE90 superior à dos óleos de *E. globulus* e *L. gracilis*, o composto limoneno obteve eficácia igual em menor tempo de ação (Tabela 2).

A CE em estudos com limoneno em artrópodes mostrou efetividade para CE50 em doses de 36 mg/ml e 32,2 mg/ml, e de 48,8 mg/ml e 58,2mg/ml com a CE90 para as espécies *Aedes albopictus* e *Culex pipiens molestus*, respectivamente (Theochari *et al.*, 2020). Para piolhos *C. columba*, a CE50 foi de 4.96mg/ml e CE90 de 18.99mg/ml.

Com base nos resultados de nossa pesquisa e nas informações disponíveis na literatura, o limoneno demonstra eficácia como inseticida e antiparasitário em várias espécies. Além disso, o composto apresenta efeito dependente da dose, com aumento da eficácia conforme a concentração utilizada nas espécies testadas (Tabela 1). Assim, na referida pesquisa, mesmo as menores

dosagens testadas, o limoneno mostrou ser eficaz na ação ectoparasitíca de *B. ovis* (Tabela 1 e 2). Portanto, quando se considera os diferentes tempos e concentrações, a ação do composto é promissora. Isso nos leva a crer na possibilidade de criação de um método alternativo ao uso de fármacos no controle de *B. ovis*.

5. Conclusão

O limoneno mostrou ter eficácia *in vitro* contra *B. ovis*, e assim sugeri-se a realização de estudos do composto *in vivo* para avaliação da segurança toxicológica assim como a comprovação da eficácia pediculicida, a fim de ser utilizado como uma alternativa aos métodos químicos convencionais no controle de piolhos nos rebanhos.

Notas informativas (opcional): Escreva aqui suas notas informativas, se houver. Colocar o número e o órgão de aprovação do comitê de ética em uso de animais ou humanos.

6. Referências

- ADENUBI, O. T, et al. Chemical composition and acaricidal activity of Eucalyptus globulus essential oil against the vector of tropical bovine piroplasmosis, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Exp Appl Acarol*, v. 83, n. 2, pag. 301-312. 2021. DOI: 10.1007/s10493-020-00578-z.
- AGUIAR, A. A. R. M, et al. *In vitro* efficacy of *Carapa guianensis Aubl. (Meliaceae)* oil on *Damalinia (Bovicola) ovis* Schrank (1781). *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 15, n. 4, 330-334, 2021. DOI: 10.21708/avb.2021.15.4.10142
- ANDRADE, F. G; e MORELLI, F. C. G. Ectoparasitas em ruminantes – revisão de literatura. *Journal MedVet Science*, v. 2, n. 3, pag. 13-18, 2020.
- BENELLI, G, et al. Control of biting lice, Mallophaga - a review. *Acta Trop*, v. 177, pag, 211-219, 2018. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.05.031.
- BEZERRA, A. D. S. et al. Ectoparasitos em caprinos e ovinos no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science*, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 110–116, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i1.3800.
- BRUDNIEWSKI, A, et al. Citronela, Neen e Noni no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* *in vitro*. *PUBVET*, v. 14, n. 9, pag 1-7, 2020. DOI:[10.31533/pubvet.v14n9a658.1-7](https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n9a658.1-7)
- COLVIN, A.F, et al. Prevalence of sheep lice and trends in control practices across Australia - Australian sheep parasite control surveys from 2003 to 2019. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*, 2022. DOI: 10.1016/j.vprsr.2021.100662.
- CRUZ, I. R. L. et al. Controle fitoterápico e fúngico de parasitoses na criação de ruminantes. *Brazilian Journal of Development*, v. 9, n. 05, pag. 15486–15506. 2023. DOI:[10.34117/bjdv9n5-069](https://doi.org/10.34117/bjdv9n5-069).
- DUARTE, V. M de S, et al. Avaliação da eficácia *in vitro* do amitraz, cipermetrina e ivermectina sobre *Bovicola ovis* (schrank, 1781), v. 22, n. 4, pag. 640-644, 2023. DOI: 10.5965/223811712242023640.
- DUTRA, A. S de S, et al. uso de plantas medicinais como carrapaticidas na medicina veterinária tradicional campeira. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, v.6, n. 1, pag. 1862–1878. DOI:10.36557/2674-8169.2024v6n1p1862-1878.
- FRANÇA, A. K. L. et al. Ação inseticida *in vitro* do óleo essencial de *Lippia gracilis Schauer* sobre *Damalinia Bovicola ovis* (Schrank, 1781). *Revista brasileira de Ciência Veterinária*, v. 28, n. 2, pag. 2-96, 2021. DOI: 10.4322/rbcv.2021.01.
- GADELHA, S. M, et al. Safety and Efficacy of Pure and a Nanosuspension of D-limonene for Controlling Pigeon Lice. *J Med Entomol*, v. 60, n. 1, pag. 148-158, 2023. DOI: 10.1093/jme/tjac178.
- GUIMARÃES, J. H, TUCCI, E. C e BATTESTI, D. M. B. Ectoparasitos de importância veterinária. São Paulo:Plêiade/FAPESP, 2001, 218p.
- GUPTA, H, SINGH, P. P, & REDDY, S. G. E. Exploring the chemical profiling and insecticidal properties of essential oils from fresh and discarded lemon peels, *Citrus limon*, against pulse beetle. *Biodeterioration & Biodegradation International*, v. 196, pag. 105924, 2025. DOI: 10.1016/j.ibiod.2025.105924.
- HEUKELBACH, J, *in vitro*. *In vitro* efficacy of over-the-counter botanical pediculicides against the head louse *Pediculus humanus* var *capitis* based on a stringent standard for mortality assessment. *Med Vet Entomol*, v. 22, n. 3, pag. 264-72, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2915.2008.00738.x.
- MOHAMMED, K, et al. Avaliação de d-limoneno e ?-ocimeno como atrativos de *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), um parasitóide de *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) em *Citrus* spp. *Insects*, v. 11, n. 1, p. 44, 2020. DOI: 10.3390/insects11010044.
- RETORE, M; CORREA, E. B. Principais Doenças Diagnosticadas nos Rebanhos Ovinos de Mato Grosso do Sul.1. ed. Mato Grosso do Sul, 2015.
- ROLIM, C. M, et al. Eficácia *in vitro* do óleo essencial de *corymbia citriodora hill e johnson (eucalyptus citriodora hook)* sobre *bovicola ovis* (schrank, 1781). *Arquivos de ciências veterinárias*, v. 28, n. 3. DOI:[10.5380/avs](https://doi.org/10.5380/avs).
- SHOWLER, A. T, HARLIEN, J. L, PEREZ de LÉON, A. A. Effects of Laboratory Grade Limonene and a Commercial Limonene-Based Insecticide on *Haematobia irritans* irritans (Muscidae: Diptera): Deterrence, Mortality, and Reproduction. *J Med Entomol*, v. 56, n. 4, pag. 1064-1070, 2019. DOI: 10.1093/jme/tjz2020.
- THEOCHARI, I, et al. Physicochemical Characteristics of Four Limonene-Based Nanoemulsions and Their Larvicidal Properties against Two Mosquito Species, *Aedes albopictus* and *Culex pipiens molestus*. *Insects*, v. 11, n. 11, 2020. DOI: 10.3390/insects1110740.
- VISAKH, N. U. et al. Caracterização química, atividade inseticida e antioxidante de óleos essenciais de quatro resíduos de casca de frutas de *Citrus* spp. Biociência dos

Alimentos, v, 50(B), pag. 102163.2022. DOI:
10.1016/j.fbio.2022.102163.