

Insecticidal and repellent effect of cinnamon oil on flies associated with livestock

Efecto insecticida y repelente del aceite de canela sobre moscas asociadas con el ganado

Jhonatan P. Boito¹ M.Sc, Aleksandro S. Da Silva^{1,2} * Ph.D, João H. dos Reis¹ M.Sc, Daiane S. Santos¹ M.Sc, Roger R. Gebert¹ M.Sc, Angelisa H. Biazus² M.Sc, Roberto C.V. Santos³ Ph.D, Priscilla M. Quatrin⁴ M.Sc, Aline F. Ourique⁴ Ph.D, Aline A. Boligon⁵ Ph.D, Dilmar Baretta^{1,2} Ph.D, Matheus D. Baldissera³ Ph.D, Lenita M. Stefani^{1,2} Ph.D, Gustavo Machado⁶ Ph.D.

¹Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC Oeste), Department of Animal Science, Chapecó, SC, Brazil. ²UDESC Oeste, Program in Animal Science Chapecó, SC, Brazil. ³Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Department of Microbiology and Parasitology, Santa Maria, RS, Brazil. ⁴Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Program in Nanoscience, Santa Maria, RS, Brazil. ⁵Universidade Federal de Santa Maria, Department of Industrial Pharmacy, Santa Maria, RS, Brazil. ⁶Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária (FAVET), Veterinary Epidemiology Laboratory (EPILAB), Porto Alegre, RS, Brazil. *Correspondence: aleksandro_ss@yahoo.com.br

Received: April 2017; Accepted: October 2017.

ABSTRACT

Objective. Due to the increased parasitic resistance, there is a need to explore alternative insecticides, including natural products, such essential oils. In this sense, the aim of this study was to evaluate, for the first time, the insecticidal and repellent effect of *Cinnamomum zeylanicum* (free and nanoemulsion forms) *in vitro* and *in vivo*. **Materials and methods.** For that, the insecticidal effect of the free form was tested at 1.0, 5.0 and 10%, while the nanoemulsion form was tested at 0.5, 1.0 and 5.0% against adult house flies, *Musca domestica*. For validation of the test, the flies were sprayed with the diluent (water and triton 10%) and with blank nanoemulsion (without *C. zeylanicum* essential oil). Moreover, *in vivo* test was performed using cows naturally infested with *Haemotobia irritans*. **Results.** The results demonstrated that cinnamon oil (10%) and the nanoemulsion (5%) were 100% effective against *M. domestica* after 90 minutes of exposure. The repellent effect was tested *in vivo* using 5% of cinnamon oil on Holstein cows naturally infested by *Haemotobia irritans*. The flies were counted at 0, 1, 2, 3, 9 and 24 h after cinnamon oil treatment. It was verified significant decrease ($p < 0.05$) in the number of flies on cows sprayed with cinnamon in all times. **Conclusions.** Based on these results, *C. zeylanicum* showed insecticidal effect (*in vitro*) against domestic flies and repellent effect (*in vivo*) against the horn fly.

Keywords: Essential oil, nanotechnology, Diptera, cinnamon (Source: CAB, MeSH).

RESUMEN

Objetivo. Debido a la mayor resistencia parásita, hay una necesidad de explorar insecticidas alternativos, incluidos los productos naturales, tales como aceites esenciales. En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar, para el primer equipo, el efecto insecticida y repelente de *Cinnamomum zeylanicum* (formas libres y nanoemulsión) *in vitro* e *in vivo*. **Materiales y métodos.** Para ello, el efecto insecticida de la forma libre se ensayó a 1.0, 5.0 y 10%, mientras que la forma nanoemulsión se ensayó a 0.5, 1.0 y 5.0% frente a las moscas domésticas adultas, *Musca domestica*. Para la validación de la prueba, las moscas fueron rociadas con el diluyente (agua y triton 10%) y con nanoemulsión en blanco (sin aceite esencial de *C. zeylanicum*). También, fueron realizadas pruebas *in vivo* usando vacas naturalmente infestadas con *Haemotobia irritans*. **Resultados.** Los resultados demostraron que el aceite de canela (10%) y la nanoemulsión (5%) fueron 100% eficaz contra *M. domestica* después de 90 minutos de exposición. El efecto repelente se ensayó *in vivo* usando 5% de aceite de canela en vacas Holstein, naturalmente infestados por *Haemotobia irritans*. Se contaron las moscas a las 0, 1, 2, 3, 9 y 24 h después del tratamiento el aceite de canela. Se verificó disminución significativa ($p < 0.05$) en el número de moscas vivas de vacas canela pulverizada en todo momento. **Conclusiones.** En base a estos resultados, *C. zeylanicum* mostró un efecto insecticida (*in vitro*) contra las moscas domésticas y efecto repelente (*in vivo*) contra la mosca de los cuernos.

Palabras clave: aceite esencial, la nanotecnología, Diptera, canela. (Fuente: CAB, MeSH).

INTRODUCTION

Ectoparasites are considered one of the most important factors linked to decreased productivity of cattle and other animal species (1). The control of these parasites is usually performed with the use of conventional antiparasitic drugs, however many of them do not exhibit the expected efficacy mainly due to pharmacological resistance (2). In this sense, flies such as *Musca domestica* are considered important vectors of viral, bacterial, fungal, and parasitic diseases (3). These insects cause great animal discomfort, especially *Haemotobia irritans* and *Stomoxys calcitrans*, since they are hematophagous flies (4), which leads to animal stress, decreased milk and/or meat production (5).

Recent reports on fly resistance (2,6) indicated a need to explore alternative insecticides, including natural products, such as phytotherapy and essential oils, in an attempt to develop greater efficiency to control and treat these ectoparasites. Also, the use of natural products may decrease the high costs related to the use of conventional chemicals, as well as reduce detrimental effects on the environment (7).

Essential oils are produced by many plants and have several commercial purposes, and the insecticidal effect (8) was observed using neem oil (9,10), and melaleuca and andiroba oils (11). *Cinnamomum zeylanicum* is a perennial tree of medium size, native of South Asia belonging to the Lauraceae family, which is acclimatized in other tropical regions of the world (12). The *C. zeylanicum* is able to inhibit bacterial growth (13), but its effects on flies remains unknown.

INTRODUCCIÓN

Los ectoparásitos se consideran uno de los factores más importantes relacionados con la disminución de la productividad del ganado y otras especies animales (1). El control de estos parásitos se suele realizar con el uso de antiparasitarios convencionales, aunque muchos de ellos no presentan la eficacia esperada debido, principalmente, a la resistencia farmacológica (2). En este sentido, la mosca como la *Musca domestica* es considerada un vector importante de enfermedades virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias (3). Estos insectos causan grandes molestias a los animales, especialmente *Haemotobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*, ya que es una mosca hematófaga (4), lo que provoca estrés en los animales y disminución en la producción de leche y/o carne (5).

Informes recientes sobre la resistencia de la mosca (2,6) indican la necesidad de explorar insecticidas alternativos, incluidos productos naturales, como la fitoterapia y los aceites esenciales, en un intento de desarrollar una mayor eficacia para controlar y tratar estos ectoparásitos. Además, el uso de productos naturales puede reducir los elevados costes relacionados con el uso de productos químicos convencionales, así como los efectos perjudiciales para el medio ambiente (7).

Los aceites esenciales son producidos por muchas plantas y tienen varios propósitos comerciales, y el efecto insecticida (8) se observó usando aceite de neem (9,10), y aceites de melaleuca y andiroba (11). El *Cinnamomum zeylanicum* es un árbol perenne de tamaño mediano, originario

The *C. zeylanicum* essential oil has great antiparasitic potential against a wide number of organisms, including mosquitoes (14). This oil is susceptible to degradation by oxidation or thermal degradation. Also, the presences of volatile and insoluble compounds make its use very difficult in pharmaceutical formulations. In this sense, a viable alternative may be the use of nanotechnology (15), through the development of nanoemulsions that are amphiphilic and non-toxic composed of biodegradable particles of essential oils and surfactant (16). The emulsion acts as a protector of the essential oil, preventing degradation and improving its biodisponibility and biocompatibility (17), leaving the essential oil for longer periods of time adhered to the animal. Thus, the aim of this study was to evaluate the insecticidal and repellent effects of cinnamon oil against flies, as well as if nanotechnology potentiates the effects.

MATERIALS AND METHODS

Local. *In vitro* tests were performed at the Animal Parasitology Research Laboratory of the UDESC West; and *in vivo* tests at a farm in the west of Santa Catarina, Brazil.

***C. zeylanicum* oil and composition.** The oil was commercially obtained from Ferquima Ltda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, SP, Brazil), and was subjected to gas chromatography (GC) analyses using the Agilent Technologies 6890N GC-FID system, equipped with DB-5 capillary column (30 m x 0.32 mm; 0.50 mm) and connected to an FID detector as described by Volpato et al (18).

To obtain the desired concentrations, the essential oil was diluted in surfactant solution nonionic Triton (19). First, the essential oil was diluted into triton solution (50/50v), and manually homogenized for 5 minutes. Then, the solution (oil and triton) was diluted with distilled water to obtain the concentrations used in this study. Triton has no biological effect on flies and for this reason it was chosen in this study (11).

Preparation and characterization of *C. zeylanicum* nanoemulsion. Cinnamon oil nanoemulsion (n=3) was prepared by the emulsification method under high agitation using Ultra Turrax®, recently described in details by Volpato et al. (18). For the blank nanoemulsion, the cinnamon oil was replaced by caprylic/capric triglyceride.

In vitro insecticidal effect against *Musca domestica*. Adult house flies were captured

del sur de Asia y perteneciente a la familia de las Lauráceas, que está aclimatado en otras regiones tropicales del mundo (12). El *C. zeylanicum* es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano (13), pero sus efectos sobre la mosca siguen siendo desconocidos.

El aceite esencial de *C. zeylanicum* tiene un gran potencial antiparasitario contra un gran número de organismos, incluidos los mosquitos (14). Este aceite es susceptible a la degradación por oxidación o degradación térmica. Además, la presencia de compuestos volátiles e insolubles hace muy difícil su uso en formulaciones farmacéuticas. En este sentido, una alternativa viable puede ser el uso de la nanotecnología (15), mediante el desarrollo de nanoemulsiones anfífilas y no tóxicas compuestas de partículas biodegradables de aceites esenciales y tensoactivos (16). La emulsión actúa como protector del aceite esencial, previniendo su degradación y mejorando su biodisponibilidad y biocompatibilidad (17), permitiendo que el aceite esencial dure más tiempo adherido al animal. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos insecticidas y repelentes del aceite de canela contra la mosca, así como la valuación de si la nanotecnología potencia sus efectos.

MATERIALES AND METODOS

Local. Se realizaron pruebas *in vitro* en el Laboratorio de Investigación en Parasitología Animal de la UDESC Oeste; y pruebas *in vivo* en una granja en el oeste de Santa Catarina, Brasil.

Aceite de *C. zeylanicum* y su composición. El aceite se obtuvo comercialmente de Ferquima Ltda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, SP, Brasil), y se sometió a análisis de cromatografía de gases (GC) utilizando el sistema GC-FID 6890N de Agilent Technologies, equipado con columna capilar DB-5 (30 m x 0,32 mm; 0,50 mm) y conectado a un detector FID según lo descrito por Volpato et al (18).

Para obtener las concentraciones deseadas, el aceite esencial se diluyó en una solución tensoactiva no-iónica de Triton (19). Primero, el aceite esencial se diluyó en solución de tritón (50/50v) y se homogeneizó manualmente durante 5 minutos. Luego, la solución (aceite - tritón) fue diluida con agua destilada para obtener las concentraciones utilizadas en este estudio. El Tritón no tiene ningún efecto biológico sobre la mosca, y por esta razón fue elegido en este estudio (11).

with the help of a net in a property in //Southern Brazil. After the capture, 300 flies were housed in cages and fed with sugar and water up to the test (48 h). Each cage (20 x 20 x 30 cm) was built using a 2-L plastic bottle with an iron frame covered by a thin nylon mesh at one end as described by Klauck et al (11).

Musca domestica flies were separated into groups of twenty insects per group and treated with the free form of *C. zeylanicum* essential oil and its nanoemulsion form by spraying 100 µL/group at concentrations of 1.0, 5.0 and 10% (free form), and 0.5, 1.0 and 5.0% (nanoemulsion form). A control group was sprayed with distilled water mixed with 10% of triton, in addition to a group with blank nanoemulsion (without *C. zeylanicum* essential oil). All tests were performed in duplicate.

Insecticidal effect was verified by observing the numbers of dead flies at predetermined times (30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutes) after oil and nanoemulsion exposure.

In vivo tests: *Haemotobia irritans*. *In vivo* tests were carried out on a farm in the municipality of Jardinópolis, Santa Catarina, Southern Brazil. This property had Holstein and Jersey cows naturally highly infested by *H. irritans*, with approximately equal number of flies per cow. Two groups of five animals (10 animals) were sprayed with the aid of a hand sprayer, with cinnamon oil at 5% (treated group) and Triton diluted with water (control group). Each animal was treated with 50 mL of solution by spraying on the head, neck and dorsal region of the body (total volume of 250 mL/group). During testing, the animals were maintained in the same field, without separation of cows per group, with free access to water, shade, and pasture. All *H. irritans* located on the animals were counted before (09:00) and 1, 2, 3, 9, 24 and 33 hours post-treatment. The total number of flies were counted by same observer in both sides of cow (left and right).

Statistical analysis. The experimental data were first analyzed by descriptive statistics for contingency of the information and for further assumptions. The number of dead flies was tested for normality of variance by Shapiro-Wilk test, skewness, kurtosis and homogeneity by Levene's test (Box 1953). The counts of all cages were transformed by $\{\text{Log}_{10}(x+1)\}$ before variance analysis. Analysis of variance (ANOVA) was considered for each time point of sampling (30, 60, 90, 120, 180, 12, and 240 minutes for *M. domestica* - *in vitro*) and (1, 2, 3, 9, 24, and 33 hours for *H. irritans* - *in vivo*)

Preparación y caracterización de la nanoemulsión de *C. zeylanicum*. La nanoemulsión de aceite de canela (n=3) fue preparada por el método de emulsificación bajo alta agitación usando Ultra Turrax®, recientemente descrito en detalle por Volpato et al. Para la nanoemulsión en blanco, el aceite de canela fue reemplazado por triglicéridos caprílicos/cápricos.

Efecto insecticida in vitro contra *Musca domestica*. Las moscas domésticas adultas fueron capturadas con la ayuda de una red en una propiedad en //Sur de Brasil. Después de la captura, 300 moscas fueron ubicadas en jaulas y alimentadas con azúcar y agua hasta la prueba (48 h). Cada jaula (20 x 20 x 30 cm) se construyó utilizando una botella de plástico de 2 L con un marco de hierro cubierto por una fina malla de nylon en uno de sus extremos, según lo descrito por Klauck et al (11).

Las moscas de *Musca domestica* fueron separadas en grupos de veinte insectos por grupo y tratadas con la forma libre de aceite esencial de *C. zeylanicum* y su forma de nanoemulsión rociando 100 µL/grupo a concentraciones de 1.0, 5.0 y 10% (forma libre), y 0.5, 1.0 y 5.0% (forma de nanoemulsión). Se roció un grupo de control con agua destilada mezclada con 10% de tritón, además de un grupo con nanoemulsión en blanco (sin aceite esencial de *C. zeylanicum*). Todas las pruebas se realizaron en duplicado.

El efecto insecticida se verificó observando el número de moscas muertas en momentos predeterminados (30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos) después de la exposición al aceite y a la nanoemulsión.

Pruebas in vivo: *Haemotobia irritans*. Se realizaron pruebas in vivo en una granja del municipio de Jardinópolis, Santa Catarina, en el sur de Brasil. Esta propiedad tenía vacas Holstein y Jersey altamente infestadas naturalmente por *H. irritans*, con aproximadamente el mismo número de moscas por vaca. Dos grupos de cinco animales (10 animales) fueron rociados con la ayuda de un pulverizador manual, con aceite de canela al 5% (grupo tratado) y Tritón diluido con agua (grupo de control). Cada animal fue tratado con 50 mL de solución rociando en la cabeza, cuello y región dorsal del cuerpo (volumen total de 250 mL/grupo). Durante las pruebas, los animales se mantuvieron en el mismo campo, sin separación de vacas por grupo, con libre acceso a agua, sombra y pasto. Todos los *H. irritans* localizados en los animales se contaron antes (09:00) y 1, 2, 3, 9, 24 y 33 horas después del tratamiento. El número total de moscas fue

as post hoc analysis TukeyHSD was used. It was considered significantly different when $p < 0.05$. The whole statistical process was carried out with R-language, v.2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

RESULTS

Oil components. Qualitative and quantitative analyses of *C. zeylanicum* essential oil demonstrated a total of 29 compounds (Figure 1). The five main components of *C. zeylanicum* essential oil are cinnamaldehyde (41.27%), linalool (13.05%), methyl eugenol (10.87%), camphor (8.12%) and eugenol (7.03%), representing 80.34% of the total essential oil composition.

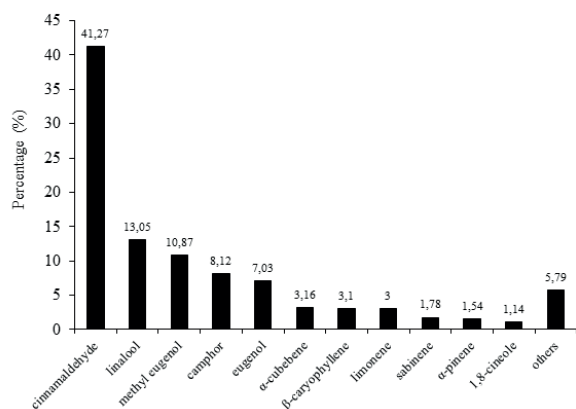


Figure 1. Composition of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil (cinnamon oil) used in this study. Adapted from Volpato et al (20).

Insecticidal effect. The insecticidal effect of *C. zeylanicum* on *M. domestica* flies are shown in Figure 2. The *C. zeylanicum* essential oil on its free form at 1.0% concentration after 60 minutes of application caused 50% of flies mortality, as well as observed after 240 minutes (61.11% of fly mortality). At 5% concentration, fly mortality was 70 and 88.8% after 60 and 240 minutes, respectively. At 10% concentration, the *C. zeylanicum* essential oil on its free form caused 100% fly mortality (Figure 2A).

The nanoemulsion treatment containing *C. zeylanicum* at 0.5 and 1.0% did not differ statistically ($p > 0.05$), showing only 20% of flies mortality. At 5% concentration, fly mortality was 70 and 100% after 30 and 120 minutes of application, respectively (Figure 2B).

contado por el mismo observador en ambos lados de la vaca (izquierda y derecha).

Análisis estadístico. Los datos experimentales se analizaron primero mediante estadísticas descriptivas para la contingencia de la información y para suposiciones posteriores. El número de moscas muertas se analizó para determinar la normalidad de la varianza mediante la prueba de Shapiro-Wilk, la asimetría, curtosis y homogeneidad mediante la prueba de Levene (Cuadro 1953). Los conteos de todas las jaulas fueron transformados por $\{\text{Log}_{10}(x+1)\}$ antes del análisis de varianza. Se consideró el análisis de varianza (ANOVA) para cada momento de tiempo del muestreo (30, 60, 90, 120, 180, 12, y 240 minutos para *M. domestica* - in vitro) y (1, 2, 3, 9, 24, y 33 horas para *H. irritans* - in vivo) y se utilizó el análisis post hoc TukeyHSD. Se consideró significativamente diferente cuando $p < 0.05$. Todo el proceso estadístico se llevó a cabo con R-language, v.2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

RESULTADOS

Componentes de aceite. Los análisis cualitativos y cuantitativos del aceite esencial de *C. zeylanicum* demostraron un total de 29 compuestos (Figura 1). Los cinco componentes principales del aceite esencial de *C. zeylanicum* son el cinamaldehído (41.27%), el linalol (13.05%), el metil eugenol (10.87%), el alcanfor (8.12%) y el eugenol (7.03%), los cuales representan el 80.34% de la composición total del aceite esencial.

Efecto insecticida. El efecto insecticida de *C. zeylanicum* sobre la mosca *M. domestica* se muestra en la Figura 2. El aceite esencial de *C. zeylanicum* en su forma libre a una concentración de 1.0% después de 60 minutos de aplicación causó el 50% de la mortalidad de moscas, y se observó después de 240 minutos (61.11% de la mortalidad de mosca). Con una concentración del 5%, la mortalidad de las moscas fue de 70 y 88.8% después de 60 y 240 minutos, respectivamente. A una concentración del 10%, el aceite esencial de *C. zeylanicum* en su forma libre causó un 100% de mortalidad de moscas (Figura 2A).

El tratamiento con nanoemulsión que contenía *C. zeylanicum* al 0.5 y 1.0% no difirió estadísticamente ($p > 0.05$), mostrando sólo el 20% de la mortalidad de moscas. Con una concentración del 5%, la mortalidad de las moscas fue de 70 y 100% después de 30 y 120 minutos de aplicación, respectivamente (Figura 2B).

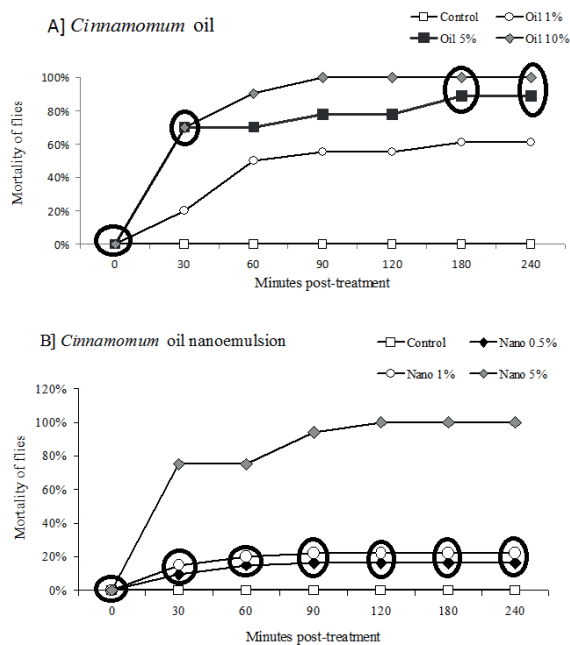


Figure 2. Insecticidal effect of cinnamon oil (A) and nanoemulsion of cinnamon oil (B) at concentrations of 1, 5, and 10% against *Musca domestica*. The number of dead flies counted at 0, 30, 60, 90, 120, 180, and 240 minutes post oil exposure. Data within the same circle are not statistically different (Tukey HSD, $p > 0.05$).

Repellant effect. A significant reduction in the number of *H. irritans* flies on cows sprayed with free essential oil was observed compared to the control group ($p < 0.05$; Figure 3). Due to climatic factors such as rain, a reduction in the number of flies was also seen in the control group 9 h after treatment, and significant differences were observed between groups. After the rain, flies were also observed on treated animals, but in lower number. In the latest evaluation, after 33 h of application the number of flies on the cows was lower on treated animals compared to the control group ($p < 0.05$).

DISCUSSION

This is the first study that has demonstrated that *C. zeylanicum* essential oil at 10% concentration is able to kill 100% of *M. domestica* flies, in addition to its repellent effect against *H. irritans* flies in cows naturally infested. Also, the nanoemulsion containing the *C. zeylanicum* essential oil showed insecticidal effect *in vitro* in all tested concentrations (0.5, 1.0 and 5.0%).

In this study, it was observed a dose dependent insecticidal effect of cinnamon oil against *M.*

Efecto repelente. Se observó una reducción significativa en el número de moscas de *H. irritans* en las vacas rociadas con aceite esencial libre en comparación con el grupo de control ($p < 0.05$; Figura 3). Debido a factores climáticos como la lluvia. También se observó una reducción en el número de moscas en el grupo control 9 horas después del tratamiento, y se observaron diferencias significativas entre los grupos. Después de la lluvia, también se observaron moscas en los animales tratados, pero en menor número. En la última evaluación, después de 33 h de aplicación, el número de moscas en las vacas fue menor en los animales tratados en comparación con el grupo control ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que ha demostrado que el aceite esencial de *C. zeylanicum* a una concentración del 10% es capaz de matar el 100% de las moscas *M. domestica*, además de su efecto repelente contra las moscas *H. irritans* en vacas infestadas naturalmente. Además, la nanoemulsión que contiene el aceite esencial de *C. zeylanicum* mostró un efecto insecticida *in vitro* en todas las concentraciones probadas (0.5, 1.0 y 5.0%).

En este estudio se observó un efecto insecticida dependiente de la dosis del aceite de canela contra *M. domestica*, con una eficacia del 100% al 10%. Aunque la nanoemulsión que contiene *C. zeylanicum* al 5% de concentración mostró un 100% de efectividad, este prometedor resultado no fue mejorado con nanotecnología. Según Ozaki et al (20), el efecto insecticida de los compuestos presentes en el aceite esencial se produce por la penetración de aceite en los tejidos del parásito, modificando las principales funciones fisiológicas de la mosca.

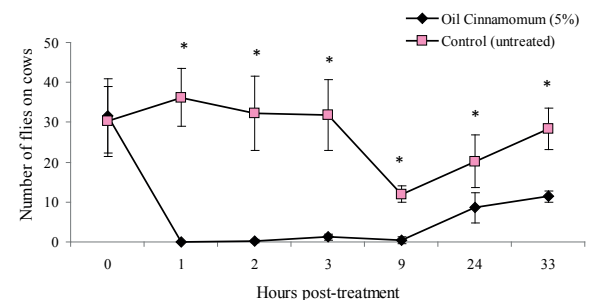


Figure 3. Total number of *H. irritans* counted on ten cattle treated with 5% cinnamon or untreated (water and triton) at 0, 1, 2, 3, 9, 24, and 33 hours post oil exposure. *Data statistically different (Tukey HSD, $p < 0.001$).

domestica, with 100% efficacy at 10%. Although the nanoemulsion containing *C. zeylanicum* at 5% concentration showed 100% of effectiveness, this promising result was not enhanced through the nanotechnology. According to Ozaki et al (20), the insecticidal effect of the compounds present in the essential oil occurs due to oil penetration into the tissues of the parasite, modifying main physiological functions of the fly. The biological properties of cinnamaldehyde and linalool have been reported in the literature, such as antibacterial, antifungal, antiparasitic, repellent, and insecticidal (21-22), as already demonstrated for the eugenol compound (23). Therefore, these compounds isolated or combined may be responsible for the insecticidal and repellent effect against the flies used in this study, without eliminating the possibility that other component may also exerts these effects.

The insecticidal and repellent effects of *C. zeylanicum* essential oil against *M. domestica* and *H. irritans* were observed for the first time, but the effect of this essential oil was also observed for other flies, such as *Ceratitis capitata* (Diptera; Tephritidae) (24). Recently, studies have been demonstrated the effects of others essential oil, such as citronella against *H. irritans* (25), and melaleuca and andiroba oils against *H. irritans* and *Chrysomya megacephala* (11). In this present study, the pulverization with *C. zeylanicum* on infested cows showed positive effects, i.e., the flies were repelled on the first hours after application, showing repellent effect during all experimental period.

Based on these results, we conclude that *C. zeylanicum* essential oil has insecticidal effect against domestic flies and repellent effect against *H. irritans*. The nanoemulsion containing cinnamon also had insecticidal effect at 5% concentration, but it was unable to potentiate the insecticidal effect of the oil in lower concentrations, rejecting our hypothesis.

Compliance with Ethical Standards. Experimental protocol was approved by the Animal Welfare Committee of the State University of Santa Catarina (UDESC) under number 7058050716.

Conflict of Interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Las propiedades biológicas del cinamaldehído y el linalool han sido reportadas en la literatura, tales como antibacteriano, antifúngico, antiparasitario, repelente e insecticida (21-22), como ya se ha demostrado para el compuesto eugenol (23). Por lo tanto, estos compuestos aislados o combinados pueden ser responsables del efecto insecticida y repelente contra las moscas utilizadas en este estudio, sin eliminar la posibilidad de que otros componentes puedan también ejercer estos efectos.

Los efectos insecticidas y repelentes del aceite esencial de *C. zeylanicum* contra *M. domestica* y *H. irritans* se observaron por primera vez, pero el efecto de este aceite esencial también se observó en otras moscas, como *Ceratitis capitata* (Diptera; Tephritidae) (24). Recientemente, se han demostrado los efectos de otros aceites esenciales, como la citronela contra *H. irritans* (25), y los aceites de melaleuca y andiroba contra *H. irritans* y *Chrysomya megacephala* (11). En el presente estudio, la pulverización con *C. zeylanicum* en vacas infestadas mostró efectos positivos, es decir, las moscas fueron repelidas en las primeras horas después de la aplicación, mostrando un efecto repelente durante todo el período experimental.

En base a estos resultados, se concluye que el aceite esencial de *C. zeylanicum* tiene un efecto insecticida contra las moscas domésticas y un efecto repelente contra *H. irritans*. La nanoemulsión que contenía canela también tenía efecto insecticida a una concentración del 5%, pero es incapaz de potenciar el efecto insecticida del aceite en concentraciones más bajas, rechazando nuestra hipótesis.

Cumplimiento de Normas Éticas. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bienestar Animal de la Universidad Estatal de Santa Catarina (UDESC) con el número 7058050716.

Conflicto de intereses. Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

REFERENCES

1. Azevêdo DMMR, Alves AA, Sales RO. Principais ecto e endoparasitas que acometem bovinos leiteiros no Brasil: uma revisão. *Rev Bras Hig San Anim.* 2008; 2(1):43-55.
2. Scott JG, Leichter CA, Rinkevich FD, Harris AS. Insecticide resistance in house flies from the United States: Resistance levels and frequency of pyrethroid resistance alleles. *Pest Biochem Physiol.* 2013; 107(3):377-384.
3. Béjar V, Chumpitaz J, Pareja E, Valencia E, Huamán A, Sevilla J, Saez G. *Musca domestica* como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y basurales de lima y callao. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2006; 23(1):39-43.
4. Palavesam A, Guerrero FD, Heekin AM, Wang J, Dowd SE, Sun Y, Foil LD, León AAP. Pyrosequencing-Based Analysis of the Microbiome Associated with the Horn Fly, *Haematobia irritans*. *PLoS One.* 2012; 7(9):e44390.
5. Brito LG, Barbieri FS, Rocha RB, Oliveira MCS, Guerrero F, Foil L. Dinâmica populacional da mosca-dos-chifres com ferramenta de predição da fixação da resistência a pesticidas. Porto Velho: Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 2015; 1(1):28-45.
6. Barros ATM. Dynamics of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) infestation on Nelore cattle in the Pantanal, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2011; 96(4):445-450.
7. Castrejón FM, Vásquez CC, Fernández MR, Torres JM, Cruz JS, Parra MR. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants. *Parasitol Latinoam.* 2003; 58(1):118-121.
8. Peixoto MG, Bacci L, Blank AF, Araújo APA, Alves PB, Silva JHS, Santos AA, Oliveira AP, da Costa AS, de Fatima Arrigoni-Blank M. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. *Indust Crops Prod.* 2015; 71(1):31-36.
9. Deleito CSR, Borja GEM. Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. *Pesq Vet Bras.* 2008; 28(3):293-298.
10. Pissinati A, Mikami AY, Marques CRG, Santos OJAP, Piva LB, Ozawa EKM, Camargo GT, Ventura UM. Use of neem and kaolin on nymphs of whitefly in cabbage. *Rev Bras Agroecol.* 2009; 4(2):1487-1490.
11. Klauk V, Pazinato R, Radavelli WM, Volpato A, Stefani LM, da Silva AS. *In vitro* repellent effect of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and andiroba (*Carapa guianensis*) oils on *Haematobia irritans* and *Chrysomya megacephala* flies. *Trop Biomed.* 2015; 32(1):33-39.
12. Lima MP, Zoghbi MGB, Andrade EHA, Silva TMD, Fernandes CS. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* blume (Lauraceae). *Acta Amazônica.* 2005; 35(2):363-366.
13. Gende LB, Floris I, Fritz R, Eguaras MJ. Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from Argentine. *Bull Insectol.* 2008; 61(1):1-4.
14. Samarasekera R, Kalhari KS, Weerasinghe IS. Mosquitocidal activity of leaf and bark essential oils of Ceylon *Cinnamomum zeylanicum*. *J Essent Oil Res.* 2005; 17(2):301-303.
15. Shahi SK, Shukla AC, Bajaj AK, Banerjee U, Rimek D, Midgely G, Dikshit A. Broad spectrum herbal therapy against superficial fungal infections. *Skin Pharmacol Physiol.* 2000; 13(1):60-64.
16. Sugumar S, Clarke SK, Nirmala MJ, Tyagi BK, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. *Bull Entomol Res.* 2014; 104(3):393-402.
17. Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nanoemulsions. *Adv Colloid Interface Sci.* 2004; 108-109:303-318.

18. Volpato A, Baretta D, Zortéa T, Campigotto G, Galli GM, Glombowsky P, Santos RCV, Quatrin PM, Ourique AF, Baldissera MD, Stefani LM, Da Silva AS. Larvicidal and insecticidal effect of *Cinnamomum zeylanicum* oil (pure and nanostructured) against mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible environmental effects. *J Asia Pacific Entomol.* 2016; 19(4):1159-1165.
19. Chagas ACS, Leite RC, Furlong J, Prates HT, Passos WM. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciênc Rural.* 2013; 33(1):109-114.
20. Ozaki M, Takahara T, Kawahara Y, Wada-katsumata A, Seno K, Amakawa T, et al. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*: putative role of an odorant binding protein. *Chem Senses.* 2003; 28(3):349-359.
21. Singh G, Maurya S, DeLampasona MP, Catalan CA. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol.* 2007; 45(9):1650-1661.
22. Niculau EDS, Alves PB, Nogueira PCDL, Moraes VRDS, Matos AP, Bernardo AR, Blank AF. Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* l'Herit e *Lippia alba* (Mill) NE. *Quimica Nova.* 2013; 36(6):1391-1394.
23. El-hag EA, El-nadi AH, Zaitoon AA. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Phytother Res.* 1999; 13(3):388-392.
24. Passino SG, Bazzoni E, Moretti L, Prota R. Effects of essential oil formulations on *Ceratitis capitata* Wied. (Dipt., Tephritidae) adult flies. *J Appl Entomol.* 1999; 123(3):145-149.
25. Agnolin CA, Olivo CJ, Leal MLR, Beck RCR, Meinerz GR, Parra CLC, Machado PR, Foletto V, Bem CM, Nicolodi PRSJ. Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitas de bovinos. *Rev Bras PI Med.* 2010; 12(4):482-487.