

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

DARCY ADRIANN REBONATO LUNS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS
ASSOCIADOS A BIOFILME NO CONTROLE DE *Rhipicephalus (Boophilus)*
microplus (CANESTRINI, 1887)**

ALEGRE – ES

2015

DARCY ADRIANN REBONATO LUNS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS
ASSOCIADOS A BIOFILME NO CONTROLE DE *Rhipicephalus (Boophilus)*
microplus (CANESTRINI, 1887)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas..
Prof.(o) Dr. (o): Vagner Tebaldi de Queiroz
Co-orientadora: Isabella Vilhena Freire Martins

**ALEGRE – ES
2015**

DARCY ADRIANN REBONATO LUNS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS
ASSOCIADOS A BIOFILME NO CONTROLE DE *Rhipicephalus (Boophilus)*
microplus (CANESTRINI, 1887)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas.

Aprovado em 25 de fevereiro de 2015.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^o. Dr^o Wagner Tebaldi de Queiroz
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof^a Dr^a Juliana Aparecida Severi
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof^a Dr^a Erika Takagi Nunes
Universidade Federal do Espírito Santo

Aos meus velhos Darcy Rebonato (*in memoriam*)
e Joelzita Monteiro Rebonato.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força e determinação em todas as etapas de minha vida, por mais árduo que fosse o caminho eu sabia que não estava só.

Ao meu pai-avô Darcy Rebonato por ter me feito homem, responsável e humano e por ter contribuído para meu aprendizado desde meus primeiros anos até meu mestrado. Obrigado pai.

A minha mãe-avó Joelzita Monteiro Rebonato por ter me dado apoio, carinho, compreensão em todo meu trajeto até o mestrado.

A minha mãe Rosemara Monteiro Rebonato e minha tia Darcimara Monteiro Rebonato pelo incentivo e apoio durante esse longo trajeto.

Ao meu orientador Vagner pelo voto de confiança, apoio, paciência e principalmente pelo seu incentivo.

A minha coorientadora Isabella pelo aprendizado e ajuda durante todo meu mestrado e também a professora Juliana por ter me mostrado um mundo novo

A todos meus amigos Nathan, Amanda, Erica, Cintia, Lahys, Fernando, Arícia, Marina, Daniela, Matheus, Erika por terem trilhado esse caminho ao meu lado, me dando forças, alegrias, compreensão, apoio durante todo esse trajeto do mestrado.

A Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, por disponibilizarem a estrutura física e o corpo docente, possibilitando a realização do curso de mestrado.

Aos funcionários da UFES que auxiliaram nesse trajeto na obtenção dos animais e até mesmo na manutenção dos laboratórios no qual trabalhei.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a CAPES pelo apoio financeiro.

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.”

Marcel Proust

RESUMO

LUNS, DARCY A. R. **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS ASSOCIADOS A BIOFILME NO CONTROLE DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887)**. 2014, 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014

O carrapato é o ectoparasito que mais afeta a pecuária bovina no mundo. Seus prejuízos são causados em decorrência da anemia gerada no animal, dificultando o ganho de peso e reduzindo a produção de leite, escoriações no couro, transmissão de toxinas e patógenos além do gasto com carrapaticidas para seu controle. Foram conduzidas duas pesquisas para avaliar diferentes extratos para o controle do carrapato bovino. O primeiro experimento teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos aquosos de Cinamomo, Pimenta roxa, Alho, Erva-de-Santa-Maria e Fumo no controle desta praga. Inicialmente foi avaliado o efeito dos extratos a 15% (m/v) sobre a postura e viabilidade tanto dos ovos como das larvas do carrapato seguindo a metodologia de Drummond (1973) além de quantificar o teor de fenóis totais e flavonoides totais de cada extrato. Os tratamentos mais eficazes no controle do carrapato bovino foram o extrato de Fumo com eficácia de 88,45% seguido pelo extrato proveniente da casca do Cinamomo com eficácia de 63,63%. Os extratos que apresentaram maiores teores de fenóis totais foram o extrato da casca do Cinamomo com 17,83 mg/g de extrato e do Alho convencional com 16,79 mg/g. Os extratos que apresentaram os maiores teores de flavonoides foram os extratos de Erva-de-Santa-Maria com 5,4 mg/g e também o da casca do Cinamomo com 4,42 mg/g. Foi possível observar que não há uma relação entre os teores de fenóis totais e flavonoides totais com a atividade carrapaticida dos extratos vegetais estudados. O Fumo e o Cinamomo apresentaram potencial como método alternativo para o controle do carrapato bovino. O segundo experimento objetivou-se em testar os extratos com maior atividade carrapaticida associado a um biofilme de polissacarídeo. Os extratos testados foram o de fumo, cinamomo e alho a 5% de concentração associados e não associados ao biofilme, uma combinação do extrato de fumo e cinamomo a 2,5% e o biofilme puro. Foi utilizado a metodologia de Drummond (1973) para os testes in vitro. O extrato de

cinamomo associado ao biofilme apresentou os melhores resultados demonstrando que a utilização do biofilme é uma alternativa viável para potencializar a atividade carrapaticida do extrato. A combinação do extrato de cinamomo e fumo apresentou resultados estatisticamente iguais aos extratos de cinamomo e fumo isolados com o dobro da concentração indicando uma possível sinergia.

Palavras-chave: Biocarrapaticida. Controle parasitário. Extratos vegetais

ABSTRACT

LUNS, DARCY A R. **CHEMICAL AND EXTRACTS EFFECTIVE PLANT ASSOCIATED WITH NO BIOFILM *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (CANESTRINI, 1887) CONTROL***. 2014 50p. Dissertation (Master of Veterinary Science) - Centre of Agricultural Sciences, Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, 2014

The tick is the ectoparasite that affects the cattle in the world. Their losses are caused as a result of the animal generated anemia, hindering weight gain and reducing milk production, abrasions on leather, transmission of toxins and pathogens besides spending on acaricide to control it. Two surveys were conducted to evaluate different extracts for control of cattle tick. The first experiment was to evaluate the efficacy of aqueous extracts of Cinamomo, Purple Pepper, Garlic, Herb-of-Santa-Maria and Tobacco in controlling this pest. Initially, the effects of the extracts to 15% (w / v) on the position and viability of both eggs and larvae of the tick following the methodology Drummond (1973) in addition to quantifying the total phenolic content and total flavonoid extract each. The most effective treatments to control the cattle tick were the 88.45% efficiency with smoke extract followed by the extract from the bark of the Cinamomo effectively to 63.63%. The extracts showed higher total phenolic content were the Cinamomo bark extract with 17.83 mg / g extract and the conventional Garlic with 16.79 mg / g. The extracts that showed the highest flavonoids contents were extracts of Yerba de-Santa-Maria with 5.4 mg / g and also the shell of cinamomo with 4.42 mg / g. It was observed that there is no relation between the total phenolic content and total flavonoid with insecticide activity of plant extracts studied. The tobacco and the Cinamomo showed potential as an alternative method for the control of cattle tick. The second experiment aimed to test in the extracts with higher activity ticks associated with a polysaccharide biofilm. The extracts were tested Tobacco, garlic and cinamomo at 5% concentration associated and not associated with biofilm, a combination of tobacco and cinnamon extract and 2.5% pure biofilm. Drummond's method (1973) for in vitro testing was used. The cinamomo extract associated with biofilm showed the best results demonstrating that the use of biofilm is a viable alternative to enhance the insecticide activity of the extract. The combination of cinnamon extract and tobacco statistically equal results to cinnamon extracts and tobacco insulated with double the concentration indicating a possible synergy.

Keywords: Biocarrapaticida. Parasite control. Vegetable extracts

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Amostras utilizadas, nomes vulgar, científico e família dos espécimes vegetais utilizados	35
Tabela 2: Prospecção fitoquímica dos extratos vegetais de cinamomo, alho, pimenta roxa, fumo e erva-de-santa-maria indicando presença (+) ou ausência (-) das classes de metabólitos descritas.....	39
Tabela 3: Quantificação de fenóis e flavonoides totais em diferentes extratos vegetais	42
Tabela 4: Médias do peso dos ovos (g), taxa de eclodibilidade dos ovos (%), índice reprodutiva e eficácia dos extratos (%) em fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> em extratos vegetais.....	46
Tabela 5: Médias do peso dos ovos (g), taxa de eclodibilidade dos ovos (%), índice reprodutiva e eficácia dos extratos (%) em fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> tratadas com diferentes soluções.	60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 O carrapato bovino	15
2.1.1 Classificação e distribuição.....	16
2.1.2 Morfologia e ciclo de vida.....	16
2.1.3 Importância econômica do carrapato bovino	18
2.2 Métodos de controle e resistência do carrapato bovino	19
2.3 Metabólitos secundários de extratos vegetais.....	21
2.3.1 Compostos fenólicos	22
2.3.2 Terpenos	23
2.3.3 Alcalóides.....	23
2.4. Metabólitos secundários como controle alternativo para controle do carrapato bovino	24
2.5. Estratégia fitoquímica para obtenção de compostos ativos.....	27
CAPÍTULO 1: Caracterização química e eficácia de extratos vegetais no controle do <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	32
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Obtenção e caracterização química dos extratos vegetais.....	35
4.1.1 Material Vegetal.....	35
4.1.2 Caracterização química	36
4.2 Biocarrapaticidograma	37
4.2.1 Obtenção dos carrapatos.....	37
4.2.2 Teste de eficácia dos extratos vegetais.....	37
4.3 Análise estatística	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6.1 Prospecção fitoquímica.....	38
6.2 Quantificação de fenóis totais e flavonoides totais	42
6.3 Ensaio carrapaticida	46
7. CONCLUSÃO	49
8. REFERÊNCIAS.....	49

CAPÍTULO 2 : Avaliação do efeito de extratos vegetais associados a biofilmes no controle do Rhipicephalus (Boophilus) microplus.	55
RESUMO	55
9. INTRODUÇÃO	56
10. MATERIAL E MÉTODOS	58
10.1 Obtenção e caracterização química dos extratos vegetais	58
10.1.1 Material Vegetal	58
10.1.2 Preparo das amostras	58
10.2 Preparo dos extratos associados ao biofilme	58
10.3 Biocarrapaticidograma	59
10.3.1 Obtenção dos carrapatos	59
10.3.2 Teste de eficácia dos extratos vegetais	59
10.4 Análise estatística	59
11. Resultado e discussão	60
11.1 Atividade carrapaticida dos extratos vegetais	60
11.2 Atividade carrapaticida do biofilme	63
11.3 Atividade carrapaticida do biofilme associado aos extratos	63
12. Conclusão	64
13. REFERÊNCIAS	65
ANEXO A	70
ANEXO B	71

1. INTRODUÇÃO

O carrapato da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* conhecido popularmente como carrapato do boi, é o principal ectoparasito dos bovinos na América do Sul e isso se deve principalmente ao clima favorável ao seu desenvolvimento e ao grande número de ovos colocado por fêmea (aproximadamente três mil ovos) (FORTES, 1993) além da grande fertilidade desses, eclodindo cerca de 85% da postura (VIDOTTO, 2002).

O carrapato bovino é um parasito monoxeno, ou seja necessita de apenas um hospedeiro para completar seu ciclo de vida. Esse ácaro não afeta diretamente o homem, porém causa grande prejuízo na bovinocultura. O Brasil possui atualmente o maior rebanho comercial do mundo com aproximadamente 209 milhões de cabeças o terceiro maior produtor de leite, perdendo apenas para a Índia e para os Estados Unidos. O carrapato do boi é um dos principais ectoparasitas que afetam a pecuária bovina, causando uma maior perda na produção de leite, seguido da mortalidade dos animais, decréscimo do desempenho reprodutivo, gastos com carrapaticidas, perda de peso e má qualidade do couro chegando a causar mais de dois bilhões de dólares de prejuízo nesse ramo (BRITO, 2011; PATARROYO & LOMBANA, 2004). Outro ponto importante é que o carrapato ainda pode inocular diversas toxinas no animal além de ser o agente transmissor da tristeza parasitária bovino, doença que acarreta grande prejuízo na pecuária bovina (BRUM, 2003; BRITO, 2011).

O controle dos carrapatos no Brasil tem sido realizado com carrapaticidas comerciais de contato. A utilização desses agentes químicos pode ter uma eficácia de até 100% no combate aos carrapatos se utilizado com um manejo adequado (CAMPOS JUNIOR & OLIVEIRA, 2005). O maior problema com o uso dos carrapaticidas químicos é a má utilização desses pelos produtores rurais e seus impactos no meio ambiente. O manejo incorreto de um carrapaticida químico pode ocasionar uma seleção de carrapatos resistentes ao agente químico, que gerará descendentes também resistentes, diminuindo consideravelmente a eficácia do carrapaticida, além de gerar resíduos desses agentes no leite e na carne (MENDES et al., 2007). Muitos autores relatam a resistência desses carrapatos a diferentes fármacos devido mau vício de encontrar um carrapaticida eficiente acompanhado pelo uso abusivo e descontrolado que os produtores apresentavam os carrapatos bovinos foram adquirindo resistência à vários agentes químicos. Entre estes destacam-se os

compostos arsenicais, substâncias cloradas, organofosforados, carbamatos e piretróides, que são os principais carrapaticidas encontrados no mercado (MERLINI & YAMAMURA, 1998).

Deste modo, a ação carrapaticida está direcionada a novas fontes de controle, o que inclui métodos alternativos naturais como o controle biológico, desenvolvimento de vacinas, uso de animais geneticamente modificados além de rotação de pastagem com alternância de animais (LEAL, FREITAS & VAZ Jr., 2003).

Neste contexto os extratos vegetais com propriedades carrapaticidas apresentam-se como uma alternativa aos Programa de Manejo Integrado de Pragas Agropecuárias e inúmeras vantagens quando comparados aos carrapaticidas químicos. Os extratos vegetais são degradáveis, podem ser obtidos a partir de recursos naturais de fácil acesso pelos produtores rurais, a maioria não deixa resíduos nos alimentos e contribui para minimizar o aparecimento de resistência em carrapatos pois são compostos da associação de vários princípios ativos (ROEL, 2001).

A partir disso o presente trabalho tem como objetivo avaliar as classes de metabólitos nos extratos vegetais da pimenta roxa, erva-de-santa-maria, cinamomo, fumo e alho através de uma prospecção fitoquímica; avaliar os teores de fenóis totais e flavonoides totais nos extratos aquosos; avaliar o efeito carrapaticida dos extratos vegetais; avaliar a eficácia da associação do biofilme de polissacarídeo nos extratos de fumo, cinamomo e alho; avaliar se os extratos de cinamomo e fumo possuem sinergismo na ação carrapaticida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O carrapato bovino

O Brasil possui o terceiro maior rebanho bovino do mundo com uma ampla diversidade de raças e seus cruzamentos visando a uma maior produção no campo leiteiro e de corte (VIDOTTO, 2002). Esses cruzamentos com o intuito de aumentar a produção geram por consequência um aumento demográfico da população de carrapatos, já que os cruzamentos acarretam em uma linhagem de gado com baixa resistência ao artrópode (FRISCH, 1999).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido popularmente como carrapato do boi, está amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e no Brasil é um dos principais ectoparasitos de importância econômica e sanitária à bovinocultura (HORN e ARTECHE, 1985). Seus prejuízos geram mais de 3,24 bilhões de dólares anualmente devido ao déficit na produção de leite e ganho de peso dos animais (GRISI et al., 2014).

Como alternativa para controle do carrapato bovino os metabólitos secundários das plantas têm sido utilizados como acaricidas e também modelos para a obtenção de novos pesticidas sintéticos (BALANDRIM, 1985). Ao longo de todo processo evolutivo as plantas começaram a desenvolver mecanismos eficazes de defesa através da produção de constituintes micromoleculares por meio de rotas sintéticas não essenciais, denominadas de metabolismo secundário. Esses metabólitos produzidos são substâncias que influenciam nas relações ecológicas entre o meio ambiente e o vegetal, conferindo vantagens adaptativas, tais como, proteção contra herbivoria, atração de polinizadores, além de defesa contra microorganismos patogênicos (SANTOS, 2013)

Os produtos de origem do metabolismo secundário se destacam dos carrapaticidas químicos já que seus princípios ativos não danificam o meio ambiente, são biodegradáveis, apresentam baixo custo de produção, conferem menor risco de intoxicação animal, além de apresentar atividade biológica satisfatória contra esses parasitos (TORRES, 2010).

2.1.1 Classificação e distribuição

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ácaro da família Ixodidae e a classificação de Flechtmann (1990) coloca o carrapato bovino no gênero *Boophilus*. No entanto, após análises moleculares e filogenéticas este foi reclassificado. Nessa nova classificação o gênero *Boophilus* se tornou um subgênero do gênero *Rhipicephalus*, assim sendo o carrapato passou a ser classificado como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (MURREL e BARKER 2003).

O Brasil apresenta condições climáticas ótimas para o desenvolvimento do carrapato bovino em quase sua total extensão. Essas condições permitem que o carrapato complete de 2,5 a 3 ou de 3 a 4 e até mesmo 5 gerações em um único ano em locais com temperaturas acima de 17 °C. Algumas intempéries como as estações secas podem limitar a sobrevivência do carrapato, levando o animal desde uma paralização nos processos de incubação e postura ou até mesmo o fracasso desses estágios (FURLONG; EVANS, 1991 apud VIDOTTO, 2002)

2.1.2 Morfologia e ciclo de vida

O carrapato bovino apresenta a base de seu gnatossoma hexagonal com rostro e palpos curtos, achatados, rugosos lateral e dorsalmente. O gnatossoma é o conjunto das peças bucais do carrapato, no qual ele se adere ao seu hospedeiro. Essas peças bucais são quitinizadas e reunidas formando uma única estrutura. Seu escudo dorsal não apresenta nenhum tipo de ornamentação, sendo de uma só cor (comumente marrom) e seus estigmas são arredondados ou ovais. Os machos dessa espécie apresentam dois pares de placas adanais desenvolvidas e geralmente com prolongamento caudal (MONTEIRO, 2011).

Para distinção do sexo utiliza-se a visualização do escudo dorsal. Esse escudo no macho cobre toda a extensão do dorso, enquanto que na fêmea ele cobre

parcialmente permitindo a expansão do corpo desta após a hematofagia (URQUHART, 1990).

O carrapato bovino é um ácaro monoxeno, ou seja, possui somente um hospedeiro durante todo seu ciclo de vida, no qual parasitam preferencialmente os bovinos. Todavia, podem parasitar secundariamente equídeos, cervídeos, caprinos, bubalinos e ovinos. Seu ciclo de vida pode ser dividido em fase não parasitária, que se inicia com a queda da fêmea ingurgitada no solo, e a fase não parasitária, quando as larvas se fixam no hospedeiro e ficam até a fase adulta (FERRETTO, 2013).

Após caírem do hospedeiro as fêmeas do carrapato bovino procuram um abrigo no solo, protegido do sol, e começam a depositar seus ovos, da qual cada fêmea põe em média cerca de 3000 ovos castanhos, esféricos e pequenos (FURLONG e SALES, 2007; FURLONG 2005; MONTEIRO, 2011). Essa postura dura vários dias terminando com a morte da fêmea do carrapato. O período de incubação dos ovos pode variar de 17 a 60 dias devido a vulnerabilidade dos ovos em relação às condições de temperatura, já que em temperaturas mais baixas os estágios de desenvolvimentos costumam ser mais tardios (MONTEIRO, 2011). Os ovos depositados pelas fêmeas do carrapato bovino apresentam alta taxa de eclodibilidade (cerca de 85% em ambientes com temperaturas de aproximadamente 27 °C e umidade relativa do ar em torno de 70%) (AGNOLIN, 2012; CORDOVÉS, 1997). No entanto é a fase mais suscetível a dessecação, já que é o único estágio na vida do carrapato que é imóvel (WILKINSON, 1970).

Cerca de 95% da população de carrapatos bovinos são encontrados fora do hospedeiro nas formas de larvas infestantes e de ovos, além das fêmeas ingurgitadas que estão no período pré-postura e postura (FERRETTO, 2013). Durante seu ciclo de vida os carrapatos passam pelos estágios de larva, hexápode, ninfa octópode e adultos. Ao saírem dos ovos as larvas sobem pelas gramíneas esperando a passagem do hospedeiro no qual se aderem. O local de fixação das larvas é principalmente em regiões que apresentam a espessura da pele adequada ao seu desenvolvimento, além de uma temperatura ótima que ocorrem em regiões mais quentes do corpo do bovino, nas quais as temperaturas variam de 31 a 38 °C (DOUBE e KEMP, 1979; FERRETTO, 2013). Após se fixar no animal a larva começa a se alimentar com sangue ou restos de tecidos mortos próximo ao local de ancoragem (FURLONG e SALES, 2007).

A primeira ecdise do carrapato ocorre após a larva sugar o sangue de seu hospedeiro por alguns dias, tornando-se uma ninfa. Após a cutícula estar enrijecida, as ninfas ingurgitam-se de sangue e mudam novamente de cutícula, tornando-se um adulto. A cópula é realizada sobre o hospedeiro, na qual o macho transfere os espermatozóides para a abertura genital da fêmea por meio de seu aparelho bucal, podendo durar vários dias (MONTEIRO, 2011). As fêmeas após a cópula ingurgitam-se de sangue passando a se chamar teleóginas, podendo aumentar de tamanho até 200 vezes seu peso (FERRETTO, 2013), desprendendo-se do hospedeiro. No solo, após o período de pré-ovoposição que dura de três a vinte dias, as fêmeas iniciam a ovopostura que é contínua e pode durar até dois meses dependendo da temperatura e umidade. Já os machos permanecem um período maior de tempo no hospedeiro, copulando com várias fêmeas (MONTEIRO, 2011).

2.1.3 Importância econômica do carrapato bovino

Em 2002, Grisi et al. colaboradores levantaram os dados relacionados ao impacto econômico causado pelos parasitos de ruminantes no Brasil e estimaram as perdas econômicas pelo carrapato bovino em mais de 2 bilhões de dólares. Mais de dez anos depois, Grisi et al. (2014) afirmam muitas mudanças no cenário da bovinocultura no Brasil e estimam as perdas já em mais de 3 bilhões de dólares.

O prejuízo causado na produção de leite foi também estimado por Rodrigues e Leite (2013) que avaliam em mais de 900 milhões de dólares a perda quando se trata do rebanho brasileiro. Já nos animais de corte as perdas chegam a mais de 2 bilhões de dólares (Grisi et al., 2014)

O carrapato pode causar prejuízo nos animais por meio de ação direta e indireta. A espoliação sanguínea se enquadra nos danos de ação direta já que gera um baixo rendimento produtivo decorrente da perda de peso, desvalorização do couro e predisposição a instalação de miíases. Além disso, o hábito hematófago gera consequências como anemia, prurido e irritação, causando estresse no animal.

O carrapato ainda pode transmitir diversos tipos de agentes patogênicos como os hemoprotozoários causadores da Tristeza Parasitária Bovina, como também

inocular diversas toxinas no hospedeiro. Entre os danos indiretos encontram-se os gastos referentes a mão-de-obra para o combate, além das despesas com compras de equipamentos e aquisição de carrapaticidas (FERRETO, 2013; GOMES, 2000).

2.2 Métodos de controle e resistência do carrapato bovino

O controle do carrapato *R. B. microplus* está baseado na aplicação de produtos químicos e normalmente é realizado de forma incorreta, com uso indiscriminado e com épocas de aplicação inadequadas. O ideal é o uso de práticas que promovam o controle estratégico do carrapato na propriedade, que envolve a forma responsável de aplicação do produto, no menor número de vezes possível e na época desfavorável ao carrapato (FURLONG, 2005).

O uso indiscriminado dos carrapaticidas comerciais ou seu uso incorreto acelera o mecanismo de resistência do carrapato aos principais agentes ativos desses produtos, dificultando ainda mais o controle desses parasitos (GOMES et al., 2011). Além disso, o tratamento com acaricidas químicos culminam em uma elevada toxicidade para o meio ambiente, podendo causar diversos problemas como o desequilíbrio ecológico nas populações tanto de carrapatos como de predadores (TORRES, 2010). Outro entrave são os resíduos que os carrapaticidas deixam na carne e leite dos bovinos, pois eles podem representar um risco potencial para o consumidor. Países como a China, EUA e outros da União Européia já definiram os limites máximos de resíduos em leite e em tecidos comestíveis (WANG et al., 2011).

No controle com produtos comerciais de *R. (Boophilus) microplus* são usados produtos à base de organofosforados, piretróides, amidinas e avermectinas geralmente na forma de pulverização ou pour on. Entretanto, devido ao longo período de utilização ou forma incorreta de aplicação, o carrapato tem-se mostrado resistente a tratamentos químicos (MARQUES, ARANTES e SILVA, 1995). A resistência do *R. (Boophilus) microplus* vem aumentando tanto em número como em amplitude de princípios ativos, como piretróides e amidinas, recomendando a realização de controle estratégico e uso racional de antiparasitários e com monitoramento constante da eficácia do acaricida usado na cepa em questão (CAMILLO et al., 2009).

Algumas medidas de manejo podem ser usadas pra auxiliar o controle do carrapato, como a aplicação de vassoura de fogo nas instalações dos animais, manter os pastos limpos e roçados para que a incidência solar promova morte de larvas no solo (FURLONG, 2005) e até o cultivo de algumas forrageiras que podem impedir as larvas a terem contato com o animal como a *Melinis minutiflora* (capim gordura) e a *Brachiaria brizantha* (braquiarião) (BARROS e EVANS, 1989).

Ainda assim, o método que apresenta um maior grau de eficácia para o controle do carrapato bovino é o controle químico. Este controle, realizado por acaricidas, se realizado da maneira correta é eficaz e economicamente viável. No entanto, seu uso indiscriminado e sua aplicação errônea gera a seleção de carrapatos resistentes aos compostos ativos encontrados nos pesticidas comercialmente disponíveis (WILLADSEN, 2006).

A resistência parasitária é um fenômeno pelo qual uma droga não consegue manter a mesma eficácia contra os parasitos, se utilizada nas mesmas condições, após um determinado período de tempo (CONDER e CAMPBELL, 1995). A resistência ocorre naturalmente em populações de artrópodes como mecanismo de defesa que tem causado grandes problemas a vários países produtores de gado leiteiro e de corte (VIDOTTO, 2002). De acordo com Pires (2006) o desenvolvimento de resistência ocorre por meio de seleção natural e não por mudanças genéticas. Essa seleção favorece o aparecimento de carrapatos resistentes a doses tóxicas letais para a uma população normal da mesma espécie, não podendo ser induzida pela exposição aos carrapaticidas químicos em baixa concentração.

Diversos estudos registram populações de carrapatos que se tornaram resistentes à maioria dos carrapaticidas químicos encontrados no mercado. Farias (1999), Pruet; Pound (2006) e Rodriguez-Vivas et al.(2006) relataram casos de resistência em carrapaticidas químicos a base de organofosforados e piretróides sintéticos, enquanto que Furlong (1999) e Farias et al. (2008) encontraram relatos de resistência para o amitraz. A resistência do carrapato bovino ao amitraz surgiu após quatro a dez anos de uso em diversas partes do mundo(FRAGOSO et al., 2003), porém este ainda possui um alto poder carrapaticida, podendo ser utilizado ainda desde que com parcimônia (MARIA, 2008).

Para avaliar a situação da resistência carrapaticida FURLONG et al. (2006) desenvolveram um teste de sensibilidade carrapaticida. O teste foi desenvolvido para

escolher qual o carrapaticida mais eficiente para a população de carrapatos a tratar, e com isso evitar a troca constante e indiscriminada de produto. A determinação do carrapaticida mais eficiente para a população de carrapatos de cada propriedade deve ser realizada baseada no resultado do teste, garantindo o sucesso da eficácia no teste a campo e retardando o processo de resistência carrapaticida.

Diversos grupos de pesquisa têm se empenhado em encontrar alternativas para o controle do carrapato. Uma das alternativas é a produção de vacinas e uma a base da proteína do intestino do carrapato, em conjunto com uma saponina já alcançou eficácia acima de 80% em várias raças de bovinos testados experimentalmente, reduzindo o número e peso de fêmeas adultas, redução do peso médio dos ovos e diminuição da fertilidade dos carrapatos (MARTINES RODRIGUEZ et al., 2014). Assim, os estudos com imunógenos são promissores na elaboração de vacinas que protejam os animais contra a infestação.

Outra alternativa é o uso do controle biológico, com a utilização de micro-organismos, principalmente fungos e bactérias, citados por Zhioua et al. (1999) como potenciais controladores de carrapatos. Algumas espécies de fungos já foram isoladas de todos os estágios de desenvolvimento de carrapatos, inclusive os ovos. Outra linha de pesquisa em expansão no controle dos carrapatos é a utilização de óleos essenciais e extratos vegetais oriundos de plantas, detalhados nos subitens a seguir.

2.3 Metabólitos secundários de extratos vegetais

Os metabólitos secundários gerados pelas plantas têm apresentado alto grau de toxicidade às pragas da agropecuária, sendo muito utilizados como pesticidas ou modelos para a síntese de agroquímicos (CHAGAS et al., 2002). Entende-se como metabólitos secundários os produtos oriundos do metabolismo vegetal que origina compostos que não possuem uma distribuição universal já que não são necessários para todos os tipos de plantas. Esses metabólitos exercem um importante papel na interação planta-ambiente, agindo contra a herbivoria, ataque de patógenos, atração de agentes polinizadores, competição intra e interespecífica entre as plantas, como dispersores de sementes e de microrganismos simbiotes (PERES, 2004).

De acordo com Rhodes (1994) o surgimento dos metabólitos secundários biologicamente ativos na natureza é determinado pelas necessidades ecológicas e pelas variadas possibilidades biosintéticas, assim a síntese desses metabólitos secundários com funções principalmente de defesa e atração tem sido conduzida pela co-evolução das plantas com insetos, microrganismos e mamíferos.

O metabolismo secundário mesmo com essa nomenclatura ocorre concomitantemente com o metabolismo primário em um mesmo produtor. As alterações no metabolismo primário pode afetar o metabolismo de algum metabólito secundário e embora o metabolismo secundário não interfira no metabolismo primário, já foram descritos casos em que os metabólitos secundários são convertidos para os primários (SIMÕES, 1999). Os metabólitos secundários estão distribuídos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides.

2.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos fazem parte de uma classe de compostos químicos com grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem no mínimo um anel aromático em que um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (SIMÕES, 1999). São derivados biossinteticamente do ácido chiquímico e/ou do ácido mevalônico. Essa classe de compostos é responsável por características como sabor e odor, atraindo não só os seres humanos, mas também outros animais. Essas substâncias agem atraindo animais para polinização ou dispersão de sementes, protegem as plantas contra os raios UV, vírus, bactérias, fungos, e até mesmo insetos (PERES, 2004).

A classificação dos compostos fenólicos está essencialmente relacionada ao tipo de esqueleto molecular e à rota biossintética de origem. Com base na ampla variedade de características estruturais presentes, os compostos fenólicos são classificados em ácidos fenólicos, fenilpropanóides, flavonóides, cumarinas, taninos, ligninas e flavonoides são, amplamente distribuídos, e outros, tais como, quinonas, xantonas, cromonas, que são fenólicos de distribuição restrita (SIMÕES, 1999).

2.3.2 Terpenos

Outra importante classe de metabólitos secundários são os terpenos. Os terpenos são constituídos por unidades de isopreno (na forma de isopentenilpirofosfato), sendo que sua classificação é determinada pelo número de unidades de isopreno que constituem a molécula inteira. Muitos dos compostos vegetais importantes são terpenos ou possuem algum derivado desse metabólito em sua molécula. Entre esses compostos estão quatro, das seis classes de hormônios vegetais (PERES, 2004).

Além disso, uma importante classe de produtos de origem vegetal chamados óleos essenciais, são constituídos de terpenos. A função desses óleos nas plantas pode ser para atrair agentes polinizadores (ao contrário dos flavonoides os principais agentes polinizadores atraídos pelos terpenos são os de hábito noturno), ou de ação inseticida, sendo que vários estudos relatam esse efeito em diversas plantas (CHAGAS et. al., 2002; PRATES, 1993; SANTOS, 2012).

2.3.3 Alcalóides

Os alcaloides são compostos nitrogenados encontrados predominantemente nas Angiospermas. Esses compostos farmacologicamente ativos são cíclicos e possuem no mínimo um átomo de nitrogênio em seu anel. A maioria desses compostos são de caráter alcalino, entretanto alguns apresentam caráter ácido, como a colchicina, piperina, oximas por exemplo (KUTCHAN, 1995; EVANS, 1996). Essas substâncias devido sua síntese não são encontrados em células jovens já que são sintetizados exclusivamente no retículo endoplasmático e concentrado nos vacúolos (Artigo 24).

A definição dos alcalóides é prejudicada pela dificuldade de uma separação específica entre alcaloides propriamente ditos e aminas complexas de ocorrência

natural. Os alcaloides verdadeiros são aqueles que contêm um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico e sua classificação é de acordo com o sistema anelar presente na molécula. Os protoalcalóides são substâncias em que o átomo de nitrogênio não-pertencente a um sistema heterocíclico. Já os pseudoalcalóides são os compostos nitrogenados que não são derivados de aminoácidos, contendo eles anéis heterocíclicos ou não (SIMÕES, 1999).

2.4. Metabólitos secundários como controle alternativo para controle do carrapato bovino

No campo da medicina veterinária o uso do conhecimento empírico sobre as plantas medicinais na saúde dos animais tem contribuído efetivamente para o aumento na produção de alimentos dentro dos princípios básicos da agroecologia, repercutindo em uma maior redução de insumos usados na produção agropecuária, entre eles no uso de quimioterápicos utilizados no controle de ectoparasitos (CUNHA & SILVA et al., 2010).

A busca por meios alternativos para o controle do carrapato bovino por meio de pesquisas com pesticidas de origem vegetal tem aumentado consideravelmente com o intuito de diminuir os problemas de resistência causado pelos carrapaticidas químicos, impedir a poluição ambiental causada pelo acúmulo dos pesticidas no solo e água, além de evitar que os produtos de origem animal como carne e leite contenham resíduos desses produtos podendo afetar a saúde dos consumidores (SOUZA et al. 2008).

Extratos vegetais e óleos essenciais anulam o efeito da resistência adquirida aos produtos químicos por serem compostos de vários princípios ativos diferentes associados entre si, impedem o acúmulo no meio ambiente devido à sua composição ser obtida através de recursos renováveis que são rapidamente degradáveis. Além disso, os pesticidas vegetais apresentam um baixo custo de produção e são de fácil acesso para os produtores rurais (ROEL, 2001).

Devido à demanda existente por métodos alternativos para o controle do carrapato bovino, diversas espécies vegetais têm sido testados para avaliar sua

eficiência como um carrapaticida entre eles o Nim (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009; BROGLIO-MICHELETTI, 2010; IANACONE e LAMAS, 2002; SANTOS, 2012), Andiroba (FARIAS, 2007), Capim Gordura (PRATES, 1993), Majericão (SANTOS, VOGEL e MONTEIRO, 2012) e Eucalipto (CHAGAS et al., 2002; OLIVO et al., 2013).

Além dessas o Fumo de corda (OLIVO et al., 2009), o Alho (ALVARENGA, 2004; MASSARIOL, 2009), Cinamomo (BORGES, et al., 2005; BORGES, da SILVA e das NEVES, 1994; SOUZA et al., 2008) e a Erva-de-Santa-Maria (ALMANÇA et al. 2013; SANTOS et al., 2013) também têm sido estudadas quanto ao seu efeito carrapaticida.

Entre as famílias com potencial efeito carrapaticida encontra-se as árvores da família Meliaceae. A espécie *Melia azedarach*, conhecida popularmente como Cinamomo, é originária da Pérsia, China e Índia, porém devido ao clima e condições favoráveis foi naturalizada no Brasil onde é possível ser encontrada nos ambientes rurais e até mesmo urbanos (BORGES, et al., 2005). Os metabólitos secundários dessa família são amplamente explorados devido a facilidade de serem extraídos, pois são encontrados em todas as partes da planta principalmente nas folhas, frutos e sementes (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009).

A literatura revela a eficiência dos extratos vegetais oriundos dessa família no controle de carrapatos. Santos et al. (2006) comprovaram a eficiência dos extratos vegetais oriundo dessa família com os carrapatos da espécie *Hyalomma anatolicum* (Acarina: Ixodidae), *Amblyomma americanum* L. (Acarina: Ixodidae) e *Dermacentor variabilis* (Acarina: Ixodidae) (SANTOS et al., 2006). Já para o carrapato bovino Souza (2008) encontraram alta eficiência para seu controle no extrato de frutos verdes e maduros. Borges (2005) também encontrou uma alta eficiência utilizando extratos hexânicos provenientes de frutos maduros de Cinamomo em bezerros infestados artificialmente. A utilização de extratos oriundos de frutos maduros pode também ser encontrado por Borges (1994) com utilização sob a forma de extratos oleosos.

A espécie *Chenopodium ambrosioides*, vulgarmente conhecida como Erva-de-Santa-Maria, é uma herbácea originária da América tropical e distribuída vastamente em todo território brasileiro. O uso desta planta como agente inseticida é antigo e de uso principalmente doméstico em que todas suas partes frescas são utilizadas em camas e colchões para afugentar pulgas e percevejos ou até mesmo sob a forma de vassouras improvisadas para afastar esses insetos (ALMANÇA et al., 2013).

Estudos mostram que os produtos originados pela erva-de-santa-maria apresentam também um potencial efeito no controle dos carrapatos bovinos. Faria et al. (2010) testando o efeito larvicida da *C. ambrosioides* constataram que extratos aquosos concentrados da folha levaram a uma mortalidade de até 60% nas larvas do carrapato bovino (SANTOS et al., 2006). Almança et al. (2013) avaliaram o efeito carrapaticida do extrato hidroetanólico (25% de concentração) da erva-de-santa-maria em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* encontrando uma eficácia de até 30%. Já Santos (2013) encontrou uma eficácia carrapaticida de até 95% em fêmeas ingurgitadas quando *C. ambrosioides* é associada a extratos de citronela e quásia (SANTOS et al., 2013).

O alho comum, *Allium sativum*, é amplamente utilizado como tempero na culinária brasileira, sendo considerado como um alimento energético. Além disso seu uso tem se estendido na medicina veterinária e também na nutrição animal principalmente em não ruminantes. A utilização do alho popularmente tem sido utilizada como opção na pecuária de corte no controle de carrapatos, helmintos, bernes e mosca do chifre (ALVARENGA, 2004), porém seu uso deve ser administrado com prudência, já que seu uso indiscriminado pode interferir nas propriedades organolépticas dos produtos lácteos alterando seu sabor (MASSARIOL, 2009).

O uso de compostos de alho para o controle do carrapato bovino é por meio de acréscimo a dieta do animal. Bianchin (1999) testou o efeito do acréscimo de alho ao sal dos bovinos para o controle de carrapatos, helmintos e mosca de chifre e constatou que o acréscimo de 2% não foi eficiente para o controle dos carrapatos. Entretanto estudos posteriores como o de Alvarenga et al. (2003) e Massariol (2009) ao utilizar resíduos de beneficiamento de alho constataram eficácia nesse tratamento utilizando a concentração de 2% de alho no sal dos animais do experimento.

O gênero *Nicotiana* L. possui cerca de 75 espécies com distribuição amplamente neotropical, onde 75% das espécies são encontradas. O fumo foi uma das primeiras espécies vegetais a serem utilizadas como inseticida pelo ser humano (DEQUECH, 2010) e seus princípios ativos responsáveis por essa ação são principalmente os alcalóides, a nicotina, a nornicotina e a anabosina, que são extraídos de suas folhas (OLIVO et al., 2009). Em relação ao carrapato bovino, Meinerz et al. (2007) testando uma formulação de fumo a 5% e cal conseguiram uma eficácia carrapaticida de até 60%, enquanto que Olivo et al. (2009) testando extratos

aquosos não encontraram resultados satisfatórios, entretanto observaram que o efeito do fumo foi mais eficaz nas formas jovens do ácaro.

2.5. Estratégia fitoquímica para obtenção de compostos ativos

A pesquisa e desenvolvimento de novos produtos bioativos potencialmente úteis ao controle do carrapato bovino requer a combinação de técnicas de extração dos compostos a partir da matéria vegetal, purificação dos constituintes extraídos e sua elucidação estrutural.

Dessa maneira, o planejamento do processo extrativo representa o ponto de partida para a obtenção dos constituintes micromoleculares de interesse terapêutico. Entende-se por extração, operações que permitam remover os compostos presentes em uma matriz complexa. Considerando a finalidade do extrato que se intenta preparar, no planejamento de um método extrativo deve-se avaliar as propriedades físico-químicas (solubilidade, estabilidade, etc) das substâncias que se deseja extrair, a eficácia da técnica escolhida, os custos e a segurança toxicológica dos materiais a serem utilizados, bem como as características morfológicas do vegetal (flor, folha, caule, raízes, frutos). Por exemplo, os óleos e gorduras de espécies oleaginosas são obtidos por sistemas de compressão mecânica das sementes, de onde é recolhido o extrato; enquanto que a incisão de estruturas secretoras serve como estratégia para recolher exsudatos, tais como na obtenção de resinas, látex, e até mesmo certos tipos de gomas (Harborne, 1998).

Além destas técnicas, o processo extrativo mais frequentemente utilizado para a obtenção de produtos naturais é feito empregando-se um líquido extrator ou mistura de líquidos, que promovem a dissolução dos constituintes armazenados nos diferentes compartimentos vegetais e sua posterior lixiviação para o meio exterior. Torna-se evidente então, que, neste caso, o preparo de um extrato depende fundamentalmente da seletividade do solvente utilizado para extrair da maneira mais eficaz possível cada um dos grupos de metabólitos secundários conhecidos. Solventes pouco polares (n-hexano, éter de petróleo, benzeno, clorofórmio, etc) extraem do vegetal compostos de natureza preferencialmente lipofílica; enquanto que

solventes polares (metanol, etanol, glicerina, propilenoglicol, água, etc) extraem substâncias de caráter principalmente hidrofílico. Compostos que se comportam como ácidos ou bases lipossolúveis, são extraídos utilizando-se de suas propriedades de formarem sais insolúveis com ácidos ou bases inorgânicas. Ainda considerando o papel da difusão no processo extrativo, o estado de divisão e tenuidade da droga vegetal, o tempo de contato do material vegetal com o solvente, o uso de agitação e a temperatura empregada podem interferir significativamente na velocidade de dissolução dos constituintes e, conseqüentemente na eficácia do processo extrativo de um dado material vegetal (Raaman, 2006).

De acordo com Shah (2010) os principais métodos extrativos laboratoriais que empregam líquido extrator à temperatura ambiente são a maceração, percolação e turbulização; enquanto que outros são feitos sob aquecimento, tais como a infusão, decocção, soxhlet, hidrodestilação e arraste a vapor. Na maceração a droga vegetal é misturada com o líquido extrator em um recipiente fechado e então o sistema é mantido em repouso ou com agitação ocasional, durante um período prolongado (horas ou dias). Pela sua natureza, não conduz ao esgotamento da matéria prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula. Apesar de certos inconvenientes, é uma das técnicas extrativas mais usuais devido à simplicidade de execução e custos reduzidos. Já a percolação, ao contrário da maceração, é um processo dinâmico, no qual ocorre a lixiviação dos princípios ativos pela passagem contínua do líquido extrator, até o seu esgotamento. Por esta razão, possibilita obter soluções extrativas mais concentradas, sendo um método preferencial para extrair compostos presentes em pequena quantidade ou pouco solúveis.

Na turbulização a extração ocorre concomitantemente com a redução do tamanho da partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento em rotações de 5000 a 2000 rpm. A redução drástica do tamanho de partícula e o conseqüente rompimento das células favorece a rápida dissolução das substâncias, resultando em tempos de extração da ordem de minutos e o quase esgotamento de drogas vegetais de elevada dureza ou muito fibrosos, tais como caules, raízes, rizomas ou lenhos (Shah, 2010).

O emprego de processos extrativos que empregam aquecimento deve ser criterioso devido à possibilidade de decomposição térmica de muitos metabólitos e/ou formação de artefatos. Ainda assim, quando se deseja estudar, por exemplo, compostos voláteis presentes em óleos essenciais, sua extração é feita principalmente por hidrodestilação ou por arraste a vapor. Os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo volátil obtido é separado da água por partição com solvente lipofílico (n-hexano, por exemplo) e seco com Na₂SO₄ anidro. Já a extração em aparelho de Soxhlet, é útil na extração de sólidos com solventes voláteis. A droga vegetal é acondicionada em um cartucho de papel filtro e entra em contato com o solvente, o qual é constantemente renovado em ciclos de evaporação e condensação, o que também confere aumento na eficiência da extração e redução na quantidade de solvente consumido, em comparação com os demais processos extrativos (Hostettman et al., 1995).

Extratos brutos vegetais são misturas complexas constituídas quase sempre por diversas classes de produtos naturais, contendo diferentes grupos funcionais. Por esta razão, a abordagem fitoquímica empregada para a caracterização dos constituintes ativos consiste na combinação de métodos de prospecção fitoquímica qualitativa associados aos métodos cromatográficos e espectroscópicos de análise.

Na abordagem qualitativa os extratos são submetidos a reações químicas que resultam no aparecimento de coloração ou precipitado em decorrência da presença de alguns grupos de metabólitos secundários eventualmente presentes. Matos (2009) propõe um roteiro de analítico sequencial que visa à detecção de ácidos graxos, terpenos, alcalóides, fenóis simples, flavonóides, antocianinas, quinonas, cumarinas, xantonas, taninos, resinas, heterosídeos cianogênicos, saponinas, heterosídeos cardioativos e glicídios, entre outros. Os testes recomendados são suficientemente sensíveis para detectar a presença destas substâncias em quantidades apreciáveis, mesmo que feitos sob inspeção somente visual. Além disso, são úteis por gerar informações que irão direcionar a estratégia de fracionamento, de acordo com a natureza dos constituintes previamente detectados (Matos, 2009).

Ainda que a prospecção fitoquímica seja uma ferramenta de grande utilidade na caracterização química dos extratos vegetais, esta não permite a identificação de constituintes individualmente. Para este propósito, a identificação da maioria dos

compostos orgânicos conhecidos na natureza tem sido feita por meio de técnicas cromatográficas.

A cromatografia representa a mais poderosa técnica analítica disponível para separar fisicamente compostos presentes em misturas complexas, tal como extratos vegetais. É um processo de separação baseado nas diferentes afinidades substâncias frente a duas fases: uma estacionária (um suporte sólido ou líquido) e outra móvel (um líquido ou gás). A interação dos componentes da mistura com estas duas fases é influenciada por diferentes forças intermoleculares, tamanho molecular e solubilidade. Dessa maneira, as velocidades das substâncias que migram pelo material estacionário serão diferentes por causa destas interações, e assim serão fisicamente separadas. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias atualmente existentes a torna uma técnica extremamente versátil e de fundamental importância para a pesquisa e desenvolvimento de novos compostos bioativos (Wixom e Gehrke, 2010).

A determinação da estrutura molecular dos constituintes isolados constitui um campo especializado da química orgânica. Seguramente, as características físicas, químicas e aplicações biológicas ou farmacológicas de qualquer composto orgânico são consequência da sua estrutura molecular (tamanho, estereoquímica, reatividade). Historicamente, a identificação de um composto isolado se baseou em procedimentos de via química, por meio da comparação direta de constantes físicas (ponto de fusão, solubilidade, rotação óptica, aspecto, etc) com as de amostras autênticas; em evidências experimentais frente às determinadas reações de identificação (oxidação, hidrólise, condensação, etc), métodos de determinação do peso molecular por microanálise (C, H e N). A partir de meados do século XX, com os avanços tecnológicos no campo de instrumentação analítica, a determinação estrutural de compostos orgânicos evoluiu consideravelmente com o desenvolvimento de técnicas de via espectroscópica. A espectroscopia representa um meio de investigar as perturbações causadas na matéria em função da interação com a radiação eletromagnética. Neste sentido, as ondas eletromagnéticas mais frequentemente usadas correspondem a áreas de frequências variadas: ondas bastante energéticas, como a radiação ultravioleta-visível; radiação de menor energia, como a de infravermelho, e outras de menor energia, como a ressonância magnética nuclear. Com o uso de aparelhagem especial, os espectrômetros, a via espectroscópica

representa hoje a principal estratégia de determinação estrutural ao alcance de pesquisadores do mundo e que tem possibilitado a pesquisa e desenvolvimento de novos compostos bioativos (Feliciano et al., 2007).

CAPÍTULO 1: Caracterização química e eficácia de extratos vegetais no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

RESUMO

O carrapato bovino é um ácaro hematófago que tem sido responsável por grandes perdas econômicas na pecuária depredando o couro do animal, transmitindo doenças e reduzindo na produção de carne e leite. Uma alternativa aos produtos químicos que geram acúmulo ao meio ambiente e podem gerar resíduos nos alimentos é a utilização de produtos naturais. Objetivou-se com esse estudo avaliar a eficácia carrapaticida de extratos de pimenta roxa, fumo de corda, erva-de-santa-maria, cinamomo e alho. Os extratos aquosos foram preparados pela mistura de 15 g de material vegetal em água destilada e agitação a 200 RPM/24 h/20 °C. Após este período a mistura foi filtrada e o volume aferido com água destilada para 100 mL. A metodologia utilizada foi a de imersão de teleóginas descrita por Drummond (1973). O teste foi realizado em triplicata com 10 carrapatos por repetição. Foi realizada também a prospecção fitoquímica e a quantificação dos compostos fenólicos e flavonoides. Os tratamentos foram os extratos de fumo, da casca do cinamomo, da folha do cinamomo, da pimenta roxa, do alho orgânico e do alho convencional e de erva-de-santa-maria. Para o controle utilizou-se água destilada. A prospecção mostrou a presença de flavonoides nos extratos de cinamomo, fumo e erva-de-santa-maria e a presença de taninos no cinamomo e na pimenta roxa. O fumo de corda apresentou a maior eficácia carrapaticida com 89,02% enquanto que os maiores valores de fenóis totais e flavonoides totais foram encontrados nos extratos de cinamomo e flavonoides respectivamente.

Palavras chave: Carrapato bovino; Prospecção fitoquímica; Controle parasitário

ABSTRACT

The cattle tick is a blood-sucking mite that has been responsible for great economic losses in livestock smashing the animal leather, transmitting diseases and reducing the production of meat and milk. An alternative to chemicals that generate accumulation to the environment and can generate waste in foods is the use of natural products. The objective of this study was to evaluate the efficacy of insecticide purple pepper extracts, chewing tobacco, herb-de-santa-maria, cinnamon and garlic. The aqueous extracts were prepared by mixing 15 g of plant material in distilled water and shaking at 200 rpm / 24 h / 20 ° C. After this period the mixture was filtered and the volume measured with distilled water to 100 mL. The methodology used was engorged females immersion described by Drummond (1973). The test was performed in triplicate with 10 ticks per replicate. We also performed the phytochemical screening and quantification of phenolic compounds and flavonoids. The treatments were the smoke extracts, cinnamon bark, the cinnamon leaf, purple pepper, garlic organic and conventional garlic and herb-of-santa-maria. For the control, distilled water was used. The survey showed the presence of flavonoids in cinnamon extracts, tobacco and yerba santa-maria-of and the presence of tannins in cinnamon and purple pepper. The chewing tobacco had the highest efficacy insecticide with 89.02% while the highest total phenol values and total flavonoids were found in cinnamon extracts and flavonoids respectively.

Keywords: Tick bovine. Phytochemical screening. parasite control

4. INTRODUÇÃO

O carrapato do boi ou *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ácaro hematófago de hábito cosmopolita. Os hospedeiros naturais desse artrópode eram os cervos, búfalos selvagens, bovinos e antílopes na Ásia. Sua dispersão ocorreu juntamente com a migração do gado zebuino, tornando-se uma praga pecuária (LEAL, FREITAS & VAZ Jr., 2003).

Por serem de difícil controle, sua infestação pode acarretar em grandes prejuízos na produção de carne, leite e desvaloriza o couro do animal devido as feridas causadas pela sua fixação. Além disso deixa o animal vulnerável a insetos como moscas e devido seu hábito hematófago o animal começa a diminuir de peso, além de poder transmitir vários tipos de doenças para o animal (VIDOTTO, 2002).

O principal método de controle do carrapato bovino é por agentes químicos, porém o mau uso desses agentes como dose inadequada, aplicação mal feita, preparo inadequado faz com que alguns artrópodes não morram. Esses animais passam para sua prole seus genes de resistência para tal produto criando uma geração de carrapatos resistentes aos carrapaticidas químicos (FURLONG & PRATA, 2006).

Devido ao problema da resistência e a busca do mercado por produtos que causem menos impactos ambientais, tem aumentado a pesquisa por carrapaticidas vegetais em todo mundo. Um dos maiores problemas é atualmente a restrição do uso de carrapaticidas químicos nos rebanhos leiteiros, pois podem gerar resíduos no leite. Para isso as pesquisas têm sido realizadas primeiramente com plantas que já tem atividade inseticida descritas e também pelo conhecimento empírico do próprio trabalhador rural sobre os prováveis efeitos de plantas regionais no combate dessa praga agropecuária (VIVAN, 2005).

Os vegetais sintetizam uma grande diversidade de metabólitos secundários e em sua maioria são constituídos de compostos fenólicos, cuja função na planta ainda não é inteiramente conhecida (Julkunen-Tiitto, 1985). Os compostos fenólicos contribuem para o sabor, odor, e coloração de diversos vegetais, mas apresentam atividade nociva também, sendo utilizado pelas plantas como bactericida, antiviral, além de participarem na defesa das plantas como método de evitar a herbivoria (HAN et al. 2002; VAQUERO, 2007)

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de extratos vegetais no controle do carrapato bovino *in vitro*, realizar uma prospecção química para averiguar as classes

de constituintes, quantificar os teores de fenóis totais e flavonoides totais além de avaliar a eficácia carrapaticida dos extratos vegetais testados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção e caracterização química dos extratos vegetais

4.1.1 Material Vegetal

O experimento foi realizado com sete amostras provenientes de cinco espécimes vegetais (Tabela 1).

Tabela 1: Amostras utilizadas, nomes vulgar, científico e família dos espécimes vegetais utilizados

Famílias	Nome vulgar	Nome científico		Amostras
Meliaceae	Cinamomo	<i>Melia azedarach</i>	1	Folhas
			2	Casca
Liliaceae	Alho roxo	<i>Allium sativum</i>	3	Bulbo (SO)
			4	Bulbo (SC)
Solanaceae	Pimenta roxa	<i>Capsicum chinense</i>	5	Frutos maduros
Solanaceae	Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i>	6	Fumo de corda
Amaranthaceae	Erva-de-santa-maria	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7	Folhas

SO – Sistema orgânico de cultivo. SC – Sistema convencional de cultivo.

As folhas e as cascas de cinamomo foram coletadas no campus do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). Os bulbos de alho roxo foram provenientes de dois sistemas de cultivo: o sistema orgânico (ARSO) e o convencional (ARSC). O ARSO foi adquirido junto a produtores rurais da região serrana do Estado do Espírito Santo enquanto que o ARSC foi cultivado no Cerrado mineiro. O fumo de corda utilizado foi adquirido no comércio local. As partes aéreas da ESM (Erva-de-Santa-Maria) e os frutos da pimenta roxa foram coletados em casa de vegetação do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) no município de Alegre. As excidatas foram encaminhadas para catalogação e depósito no herbário da UFES.

4.1.2 Caracterização química

Os materiais vegetais foram secos em estufa (7 dias/ 40 °C) e transferidos para moinho de faca (MA-340, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) para obtenção de um fino pó. Estes foram acondicionados em recipientes hermeticamente fechado e mantidos a 25 °C em ambiente protegido da incidência de luz até o momento de sua utilização. Os extratos aquosos foram preparados pela mistura de 15 g de material vegetal em água destilada e agitação a 200 RPM/24 h/20 °C. Após este período a mistura foi filtrada e o volume aferido com água destilada para 100 mL. O erlenmeyer foi mantido sob agitação a 200 RPM (Q816M20, Quimis, Diadema, SP, Brasil) por um período de 24 h a 20 °C. Após esse tempo, a mistura foi centrifugada 6000 RPM por 20 min. O sobrenadante foi filtrado a vácuo, transferido para um balão volumétrico e o volume aferido com água destilada para 50 mL.

Para a pesquisa de flavonoides foi utilizado a metodologia do cloreto de alumínio e Shinoda. Os extratos vegetais foram aplicados em papel fitro e em seguida foi adicionado três gotas de $AlCl_3$ a 5% e analisado sob luz ultravioleta (360nm). Na metodologia de Shinoda foram adicionados aos extratos fragmentos de magnésio metálico seguido da adição de HCl concentrado (1mL) sendo a presença dos flavonoides indicado pela coloração rósea-avermelhada no extrato.

Para a detecção de cumarinas foi utilizado KOH. Os extratos foram aplicados em papel filtro e sobre eles foi adicionado 2-3 gotas de KOH a 10% e depois analisado sob luz ultravioleta. Para detectar alcaloides foi utilizado o reagente Mayer, enquanto que para taninos foi utilizado a reação por gelatina.

Os fenóis totais foram avaliados de acordo com Singleton et al. (1999), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) e leitura a 725nm utilizando espectrofotômetro UV-Visível (DU®-70, Beckman, Midland, Ontario, Canada). A quantificação dos flavonóides totais foi realizada segundo Çam & Hisil (2010), por espectrofotometria a 510nm do complexo formado entre o flavonoide e o alumínio do reagente de cor. Os teores de fenóis e flavonoides totais foram determinados, respectivamente, a partir das curvas de calibração obtidas pela análise de regressão linear entre os valores de absorvância e concentrações de soluções padrão do ácido gálico e catequina, respectivamente.

As equações das curvas de calibração para o ácido gálico e catequina foram, respectivamente, $A = 0,0835C_{\text{fenol}} - 0,0147$ ($R^2 = 0,997$) e $A = 0,003C_{\text{flavonoide}} - 0,003$

($R^2 = 0,999$), onde A é o valor de absorvância no comprimento de onda utilizado para a realização do teste e C é o teor de fenol ou flavonóide no extrato. As análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão (E.P.) de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (EAG/g; fenol total) e equivalente de catequina por grama de extrato (EC/g; flavonóide total).

4.2 Biocarrapaticidograma

4.2.1 Obtenção dos carrapatos

Os bovinos dos quais foram retirados os carrapatos pertencem a área experimental veterinário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo e da área de bovinos do Instituto Federal do Espírito Santo localizados no município de Alegre - ES. Para que o teste fosse realizado os bovinos ficaram mais de quinze dias sem contato com nenhum tipo de carrapaticida, seja ele químico ou natural. Foram coletadas fêmeas teleóginas com um tamanho maior ou igual a 4mm (tamanho de um feijão), que é o tamanho indicado para o experimento.

4.2.2 Teste de eficácia dos extratos vegetais

O teste para avaliação da eficácia dos extratos vegetais seguiu a metodologia descrita por Drummond (1973). As teleóginas foram selecionadas quanto ao tamanho e mobilidade e distribuídas nas placas de Petri até totalizar dez carrapatos por placa. Foram sete tratamentos e um controle com três repetições cada. Os carrapatos foram pesados e distribuídos com substituição de maior ou menor peso afim de que os grupos tivessem o peso uniforme.

Os carrapatos foram imersos em 10 mL de extrato aquoso por cinco minutos. O excesso das soluções foi retirado com papel toalha. O controle foi feito com imersão das teleóginas em água de osmose reversa. Após as imersões os carrapatos foram fixados em uma fita adesiva dupla face em placas de petri que foram acondicionadas e mantidas em uma temperatura de 28 °C com umidade controlada em estufa para B.O.D. Após 15 dias as fêmeas mortas foram retiradas das placas e os ovos foram pesados das placas.

A massa de ovos foi pesada em balança com precisão de 0,01g. Os ovos foram acondicionados em seringas com a extremidade cortada e preenchida com algodão

(permitindo as trocas gasosas e impedindo a fuga das larvas) e mantidas na BOD com temperatura e umidade controlada por mais trinta dias para a contagem dos ovos eclodidos.

Os valores do índice reprodutivo (IR) e eficácia dos extratos foram obtidos através da fórmula descrita por Drummond (1973):

$$IR = \frac{\text{peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000^1}{\text{Peso das teleóginas}}$$

$$\% \text{ de eficácia} = \frac{(\text{IR controle} - \text{IR tratado}) \times 100}{\text{IR controle}}$$

4.3 Análise estatística

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos + controle. Para análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT, versão 7.7 beta (SILVA, 2013).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Prospecção fitoquímica

A identificação de classes de metabólicos contidos em cada extrato é de suma importância para identificar os meios pelo qual os extratos agem no controle do carrapato bovino. Algumas classes de metabolitos apresentam grande potencial para seu uso como acaricidas naturais. Os flavonoides apresentam alguns compostos, como a quercetina, que apresenta efeitos de citotoxicidade, efeitos de indução de apoptose e interrupção do ciclo celular (SPENCER et al. 2003). Além disso é conhecida a ação dos flavonoides como bactericida, antifúngica e antioxidante (HAN et al. 2002).

Os taninos são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais (Bruneton, 1991). Pesquisas sobre atividade biológica dos taninos evidenciaram ação contra microrganismos e causadores de toxicidade hepática (SCALBERT, 1991; CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998;).

As propriedades mais bem conhecidas das cumarinas parecem estar relacionadas com a defesa das plantas. Ingerir cumarinas de algumas plantas, como o trevo, podem causar hemorragia interna em mamíferos. Da mesma forma, cumarinas presentes no tecido foliar de *Heracleum mantegazzianum* pode causar fotofitodermatites quando em contato com a pele, indicando seu potencial tóxico (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000).

Já os alcaloides foram uns dos primeiros fitoinseticidas utilizados pelo homem. A nicotina, alcalóide encontrado no fumo, foi empregada como inseticida pela primeira vez no final do século XVII na França. Junto com a nicotina, outros alcaloides com atividade inseticida como a nornicotina e a anabasina foram descobertos, isolados e utilizados como controle de pragas (VIEIRA; FERNANDES, 1999). As classes de metabólitos encontrados nos extratos vegetais estudados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Prospecção fitoquímica dos extratos vegetais de cinamomo, alho, pimenta roxa, fumo e erva-de-santa-maria indicando presença (+) ou ausência (-) das classes de metabólitos descritas.

Extratos Vegetais	Metabólitos			
	Flavonóides	Cumarinas	Alcalóides	Taninos
Cinamomo (F)¹	(-)	(-)	(-)	(-)
Cinamomo (C)²	(+)	(-)	(-)	(+)
Alho ARSO³	(-)	(-)	(-)	(-)
Alho ARSC⁴	(-)	(-)	(-)	(-)
Pimenta roxa	(-)	(-)	(-)	(+)
Fumo de corda	(+)	(-)	(-)	(-)
ESM⁵	(+)	(-)	(-)	(-)

Extrato proveniente da casca¹ e folha² do cinamomo. Alho cultivado com plantio orgânico³ e com agrotóxico⁴. ⁵ Erva-de-Santa-Maria.

O extrato de folhas de cinamomo não apresentou nenhuma reação aos testes de prospecção utilizados no experimento, porém o extrato de casca de cinamomo indicou a presença de flavonoides e taninos. Na literatura é possível encontrar diversas substâncias isoladas e caracterizadas como princípios tóxicos do cinamomo (PIRES JUNIOR, 2010). Carratala (1939), assim como nesse experimento, encontrou em suas amostras a presença de taninos no cinamomo, porém também encontrou em suas amostras a azaridina que é um alcaloide, e nesse experimento não foi identificado alcaloides nos extratos de Cinamomo. A prospecção do extrato de cinamomo pode indicar que alcaloides não estão presentes em extratos aquosos, não sendo então responsáveis pela ação carrapaticida em extratos aquosos de cinamomo.

Os dois tipos de alho, com cultivo orgânico e por meio de agrotóxicos, não revelaram nenhuma resposta aos testes de prospecção fitoquímica. Lins et al. (2012) realizando um estudo fitoquímico no *Allium sativum* não identificou nenhuma classe de substâncias testadas nesse experimento, apenas mono e sesquiterpenóides e triterpenóides que, de acordo com os autores, apresentam funcionalidade fisiológica de proteção da planta contra o ataque de bactérias e fungos (LIMA; HERNANDEZ, 2008). Garcia-Gómez & Sánchez-Muniz (2000) detectaram no alho vários compostos sulfurados como a alicina e o tiosulfinato, que apresentam atividade antiviral, antifúngica e antibacteriana, além de substâncias não sulfuradas como as saponinas e ácidos fenólicos, que apresentam ação bacteriana. Essas substâncias podem ser alguns dos princípios ativos que conferiram ao alho a ação carrapaticida encontrada nesse experimento.

O fumo de corda, ao contrário do esperado, não apresentou reação ao teste de alcaloide, apresentando somente reação ao teste de flavonóide. A presença de flavonoides no fumo já é conhecida na literatura. Silva (2007) encontrou em suas amostras de fumo a presença de flavonoides, além de alcaloides, cumarinas e traços de saponinas no fumo. Outros trabalhos também indicam a presença dos dos flavonoides, assim como dos alcaloides e cumarinas em amostras de fumo (HINDS, 1882; CHRISTAKOPOULOS et al. 1992), porém nos trabalhos, assim como nesse experimento, não haviam indícios de taninos. Uma possibilidade para os resultados negativos nos testes pode ser o fato do extrato de fumo ter sido congelado e descongelado várias vezes, o que pode ter ocasionado a degradação de algumas

substâncias presentes nos extratos ou até mesmo a viabilidade dos reagentes, já que nenhuma amostra no estudo apresentou indícios de alcaloides e cumarinas.

A pimenta roxa nesse estudo apresentou resposta apenas para taninos, porém Ochoa-Alejo & Ramírez-Malagón relatam a presença de flavonoides nas plantas do gênero *Capsicum*. De acordo com os autores, as antocianinas são responsáveis pela coloração avermelhada ou roxa em frutos, sementes, flores, talos e até folhas nas pimentas, e essa coloração é que as torna mais atrativas até mesmo no ponto de vista ornamental. Reifschneider (2000) relata que as pimentas possuem normalmente o sabor pungente característico devido a presença de um alcaloide chamado capsaicina, porém como as concentrações desse alcaloide variam dentre as partes das plantas, é possível que este não tenha sido identificado no teste. Além da capsaicina, as pimentas apresentam em geral água, óleos fixos e voláteis, carotenóides, resinas, proteínas, fibras e elementos minerais que conferem aos frutos dessas pimentas alto valor nutricional (BOSLAND & VOTAVA, 1999). A ausência dessas classes de substâncias na prospecção pode ocorrer pela ausência destas no fruto colhido, ou que essas substâncias não apresentam solubilidade em água, não permanecendo em extratos aquosos. Possivelmente a ação carrapaticida encontrada nesse estudo aconteça principalmente pela ação dos taninos presentes nos extratos aquosos.

No experimento a erva de santa maria demonstrou a presença apenas de flavonoides. Em um estudo de prospecção fitoquímica em partes aéreas da erva-de-santa-maria, Marins et al. (2011) encontrou apenas taninos em suas amostras, não identificando alcaloides, cumarinas e flavonoides em seu experimento. Porém, em uma análise química em óleo essencial encontrou a presença de flavonoides na amostra. Como apenas os flavonoides foram identificados nesse experimento no extrato aquoso, é possível que ele seja o responsável pela atividade carrapaticida do extrato.

6.2 Quantificação de fenóis totais e flavonoides totais

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais (FT) expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de extrato e flavonoides totais (FlaT) expressos como equivalentes de catequina (ECAT) por g de extrato são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Quantificação de fenóis e flavonoides totais em diferentes extratos vegetais

Extratos Vegetais	Fenóis totais¹ (mg de EAG/g de amostra)	Flavonóides totais¹ (mg de ECAT/g de amostra)
Cinamomo – Folha	12,14±0,1 de	3,85±0,03 d
Cinamomo – Casca	17,83±0,03 a	4,42±0,01 b
Alho orgânico	11,9 e	0,15 g
Alho convencional	16,79±0,18 b	1,29±0,01 f
Pimenta roxa	12,49±0,01 d	4,22±0,04 c
Fumo de corda	14,57±0,2 c	3,02±0,01 e
Erva-de-santa-maria	14,52±0,07 c	5,4±0,004 a

¹ Valores são médias ± erro padrão; As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5% de probabilidade); EAG = equivalente de ácido gálico; ECTA = equivalente a catequina

É possível observar que a casca do cinamomo apresentou o maior valor em compostos fenólicos seguido pelo alho convencional. Ahmed et al. (2012) relataram o teor de fenóis totais de 0,3 mg equivalente de ácido gálico/g (mg EAG) de extrato aquoso preparado a partir de folhas de cinamomo. Kaneria et al. (2009) avaliaram o conteúdo fenólico de extratos aquosos de Cinamomo produzidos a partir de folhas e casca coletados na Índia. Utilizando o método de Folin-Ciocalteu para quantificação dos fenóis os autores encontraram uma concentração de 38,22 ± 0,56 (mg equivalente

a ácido gálico/g de extrato \pm erro padrão da média) no extrato proveniente das folhas e 47,65 \pm 0,56 da casca. Assim como no presente trabalho, os valores de fenóis totais presentes no extrato da casca do cinamomo se mostraram superiores que no extrato das folhas, indicando uma maior presença dessa classe de metabólitos no córtex do espécime vegetal. Samudram et al. (2009) trabalhando com extrato etanólico de folhas de cinamomo obtiveram a concentração de 74,8 \pm 1,24 (mg EAG/g) de fenóis totais superando a concentração de fenóis encontrado nesse trabalho. Sendo assim, é possível observar que os valores de fenóis totais encontrados no cinamomo apresentam-se variáveis com o tipo de extrato, parte da planta utilizada e local de origem do espécime coletado (ROCHA et al., 2010).

O alho convencional obtido em Minas Gerais assim como o cinamomo apresentou um alto valor de concentração de compostos fenólicos. Não foi encontrado na literatura quantificações de fenóis totais em extratos aquosos, todavia, Bozin et al. (2009) quantificando o extrato etanólico de alho imaturo, bulbos envelhecidos e bulbos frescos encontraram valores menores fenóis totais, variando de 0,98 em plantas imaturas a 0,05 (mg EAG/g de extrato) em bulbos envelhecidos. De acordo com os autores as reduções dos teores de compostos fenólicos no alho provavelmente são causadas pelo aumento de compostos de enxofre e terpenóides presentes no óleo essencial de bulbos de alho maduros. Lu et al. (2011) trabalhando com alhos de diferentes localidades encontraram valores de fenóis totais entre 15,75 a 19,02 mg EAG/g de extrato metanólico, sendo compatível com os resultados encontrados que variaram de 11,9 a 16,79 mg EAG/g de extrato de extrato aquoso. Os valores superiores podem ser influência além do local de plantio, ao método de produção e principalmente ao tempo entre a colheita e a quantificação do alho.

Trabalhos na literatura pesquisada contendo informações de fenóis totais de fumo de corda foram pouco encontrados. Nasr et al. (2014) quantificaram diferentes partes da planta do fumo em diferentes temperaturas de secagem. Para temperaturas de 70 °C foi encontrado a concentração de 23,05 mg mg EAG/g de extrato em folhas de fumo, enquanto que em temperaturas de 40 °C foi encontrado uma concentração de 4,54 mg EAG/g de extrato em plantas jovens. Em plantas adultas o teor de concentração de fenóis totais é compatível com o que é encontrado neste estudo de 14,46 mg EAG/g em temperaturas de 70 °C e 20,34 mg/g na temperatura de 40 °C.

Não foram encontrados trabalhos indicando níveis fenólicos para a pimenta roxa e erva-de-santa-maria (ESM). É possível observar que a erva-de-santa-maria apresentou o menor valor de fenóis totais, seguido da pimenta roxa. Na prospecção não foram encontrados cumarinas e flavonoides no extrato de pimenta, ambos pertencentes a classe de fenóis totais, enquanto que a erva-de-santa-maria apresentou apenas a presença de flavonoides. É possível que por apresentar valores tão baixos de fenóis, estes não foram detectados na prospecção da pimenta roxa.

A ESM apresentou o maior teor de flavonoides totais entre os extratos vegetais, seguido do extrato da casca do cinamomo. Os menores teores de flavonoides foram encontrados nos extratos dos alhos orgânico e convencional. Não foram encontrados trabalhos na literatura quantificando flavonoides de *Chenopodium* ambrosioides, todavia Sá et al. (2012) avaliando o teor de flavonoides na ESM por meio de quantificação espectrofotométrica encontraram uma concentração de 16,1 mg de equivalente de quercetina/g de extrato etanólico, superior ao encontrado neste trabalho.

Miean e Mohamed (2012) trabalhando com 62 espécies de plantas tropicais comestíveis em extratos metanólicos quantificou os teores de flavonoides totais da pimenta malagueta e do alho. Na pimenta foi encontrado o teor de 1,66 mg de equivalente de quercetina /g de peso seco, inferior ao encontrado neste trabalho de 4,22. O mesmo aconteceu para o extrato de alho, sendo encontrado o teor de 0,9 mg/g, enquanto que neste estudo foi encontrando uma variação de 0,15 a 1,29 mg/g de extrato. Essa diferença no teor de flavonoides encontrada pode estar relacionada ao solvente extrator utilizado (água/metanol), aos diferentes locais de coleta dos vegetais, além da técnica de quantificação utilizada (Folin-Ciocalteu/HPLC).

Bozin et al. (2009) também utilizando a metodologia de colorimetria por cloreto de alumínio encontraram valores de teor de flavonóides menores em extratos metanólicos de alho que o presente trabalho. Os valores variaram de 4,16 µg de equivalente de quercetina /g de extrato em bulbos de alhos envelhecidos a 6,99 µg/g em bulbos imaturos, enquanto que o presente trabalho encontrou valores de 0,1 mg/g (100 µg/g) em alho orgânico e 1,29 mg/g (1290 µg/g) em bulbos com plantio convencional.

Kaneria et al. (2009) encontraram valores superiores de flavonoides em extratos aquosos preparados a partir da casca e folhas de cinamomo. Nos extratos obtidos a partir da casca e das folhas foram obtidos, respectivamente, os teores de 15,78 mg/g e 7,41 mg/g de flavonoides, ambos superiores ao presente estudo.

Utilizando a mesma metodologia Samudram et al. (2009) encontraram o teor de 49,8 mg equivalente a catequina/g de flavonoides em extratos etanólicos, também superior ao encontrado no presente trabalho. Uma possibilidade do grande teor de flavonoides encontrado no trabalho de Samudram et al. (2009) é além do solvente utilizado no extrato a origem do material vegetal, já que os autores utilizaram para o estudo sementes de cinamomo e não casca e folhas como Kaneria et al. (2009) e o presente trabalho, além dos diferentes padrões utilizados.

Os valores encontrados para teor de flavonoides em fumo de corda foram compatíveis ao encontrado no trabalho de Nasr et al. (2014). Neste estudo foi quantificado 3,02 mg equivalente a catequina/g de extrato, enquanto que no trabalho de Nasr et al. (2014) foram encontrados valores de 3,26 mg equivalente a quercetina/g em plantas jovens secas a 70 °C e 3,16 mg/g em plantas adultas.

É possível observar que diversos fatores abióticos e bióticos influenciam nos teores de fenóis totais e flavonóides totais. De acordo com os autores esses teores podem variar devido a diferença do local de plantio dos espécimes cultivados (Lu et al.,2011), parte da planta amostrada para análise (Kaneria et al.,2009), maturidade da planta trabalhada (Bozin et al.,2009), métodos de tratamento pós-colheita (Nasr et al.,2014) e também pelo sistema de cultivo já que os herbicidas podem modificar o metabolismo secundário dos vegetais (YAMADA & CAMARGO e CASTRO, 2007).

Outro fator determinante para essa variação seria a facilidade desse composto em ser oxidado, sendo degradado rapidamente na amostra durante o processo da análise química (SIMÕES et al., 1999). Trabalhando com Óleo essencial Morais (2009) e Marco et al. (2007) observaram que a quantidade obtida de óleo produzida por planta pode variar, assim como sua composição química devido a fatores ambientais como interações das plantas com outros organismos (microorganismos, insetos), idade da planta ao ser amostrada, estágio ontogenético, fatores abióticos como temperatura, umidade, condições do solo, nutrição, estação do ano e horário da coleta.

6.3 Ensaio carrapaticida

A Tabela 4 apresenta os valores de peso de postura, taxa de eclodibilidade, eficácia reprodutiva e eficácia dos extratos vegetais dos espécimes vegetais testados. O peso da postura revela a interferência do extrato na reprodução do carrapato bovino e a taxa de eclodibilidade representa a interferência do extrato na viabilidade dos ovos colocados pelas fêmeas.

Os valores do índice reprodutivo (IR) expressam os valores relacionados à postura e eclosão dos ovos. Vários fatores podem influenciar o IR principalmente a temperatura e a umidade relativa do ar, porém nos experimentos *in vitro* esses fatores são controlados, portanto é considerado que apenas os efeitos relacionados aos tratamentos utilizados. A eficácia do extrato é o parâmetro que avalia todas as variáveis indicando a eficácia carrapaticida geral do extrato vegetal utilizado.

Tabela 4: Médias do peso dos ovos (g), taxa de eclodibilidade dos ovos (%), índice reprodutiva e eficácia dos extratos (%) em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em extratos vegetais

Extratos Vegetais	Peso da postura	Taxa de eclosão	Índice reprodutivo	Eficácia do extrato
Controle	0,43 a	100 a	1016667 a	-
Cinamomo (F)⁴	0,23 ab	96,66 a	516666,7 b	46,66% bc
Cinamomo (C)³	0,3 ab	22 c	152222 c	85,33% ab
Alho ARSO²	0,23 ab	74,66 b	400000 bc	58,36% abc
Alho ARSC¹	0,3 ab	99 a	692500 ab	30,6% c
Pimenta roxa	0,26 ab	71,33 b	434666,7 bc	53,5 % abc
Fumo de corda	0,13 b	33, 66 c	103611 c	89,02% a
ESM⁵	0,26 ab	70 b	434814,7 bc	57,52% abc

Alho cultivado com plantio com agrotóxico¹ e orgânico². Extrato proveniente da casca¹ e folha² do cinamomo. ³ Erva-de-Santa-Maria. As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5% de probabilidade);

É possível observar que o fumo de corda apresentou maior eficiência em todas as variáveis estudadas em relação aos demais extratos. Observando-se o peso dos

ovos é possível notar uma diminuição de quase 70%, indicando que o fumo pode agir na postura do carrapato bovino efetivamente. O fumo afetou também a taxa de eclodibilidade, implicando em uma diminuição de mais de 65%. O tratamento com o fumo de corda também gerou a menor eficiência reprodutiva do estudo, com uma redução de quase 90% comparado ao controle.

Poucos estudos utilizam soluções de fumo de corda no controle do carrapato bovino. Olivo et al. (2009) utilizando aspersões de solução contendo fumo e cal ou fumo e detergente encontraram eficácias de até 77%, ainda menor do que a eficácia encontrada *in vitro* por este experimento. Meinerz et al. (2007) utilizando também o fumo em teste *in vivo* encontrou uma eficiência superior a 60% em vacas leiteiras da raça holandesa infestados naturalmente. Em ambos os estudos houve animais apresentando comportamentos anormal como anorexia nos primeiros dias e sinais de apatia.

O cinamomo apresentou também alto poder carrapaticida. Assim como o fumo ele agiu na postura dos carrapatos, diminuindo mais de 30% no peso dos ovos no extrato proveniente da casca e cerca de quase 50% no extrato de folhas. O cinamomo baixou também a taxa de fertilidade dos ovos, diminuindo a taxa de eclodibilidade quase 80% no extrato feito de casca. A eficácia do extrato originado do cinamomo foi o segundo mais eficiente no controle do carrapato bovino com 85,33% de eficácia, enquanto que o extrato preparado a partir das folhas apresentou uma eficácia de 46,66%. Vivan (2005) encontrou também em seu estudo um decréscimo na fertilidade e viabilidade dos ovos quando tratados com extratos aquosos de cinamomo a 0,2%, encontrando uma diminuição de 12% na postura e cerca de 20% na taxa de eclosão dos ovos. Em relação ao índice reprodutivo o cinamomo apresentou uma diminuição de mais de 50% em ambos os extratos.

A eficácia de ambos extratos de cinamomo foram mais que o dobro da eficiência encontrada por Vivan (2005) utilizando extrato aquoso de cinamomo em uma concentração de 0,2%, enquanto que no trabalho de Borges et al. (2008) foi encontrada eficiência de até 100% utilizando frutos verdes e maduros em extratos hexânicos, indicando o alto poder carrapaticida do cinamomo em todas as etapas do ciclo evolutivo do carrapato. Utilizando extratos oleosos de cinamomo Borges et al. também encontraram eficácias altas de até 100% em concentrações de até 1% (m/v), agindo drasticamente na postura e na fertilidade dos ovos. Além dos testes *in vitro*,

Borges et al. (2005) utilizando extrato de cinamomo *in vivo* em bezerros infestados artificialmente constatou uma eficácia de 63,6%. Esses estudos juntamente com essa pesquisa corroboram a hipótese de que o princípio ativo do cinamomo seja apolar, estando presente preferencialmente nos extratos hexânicos do que os extratos a base de água.

O alho cultivado na ausência de agrotóxicos no Espírito Santo também apresentou uma boa eficiência no controle do carrapato bovino. A redução na postura de ovos foi equivalente a quase 50% enquanto que o alho produzido com agrotóxicos em Minas Gerais apresentou redução de aproximadamente 30%. Na eclodibilidade dos ovos o alho orgânico reduziu a eclosão em quase 30% enquanto que o alho convencional não afetou a fertilidade dos ovos. A redução no índice reprodutivo foi mais de 60% no alho orgânico, gerando uma eficácia geral de extrato de 58,36%. O alho convencional também diminuiu o índice reprodutivo, mas de maneira mais branda, reduzindo pouco mais que 20%, com eficácia carrapaticida geral de menos de 30,6%.

Alvarenga et al. (2004) e Massariol et al. (2009) encontraram significativas reduções em testes *in vivo* em animais artificialmente infestados. Aboelhadid et al. (2013) utilizando óleo essencial de alho e cebola encontraram uma eficácia de até 100%, enquanto que Martinez-Velazquez et al. (2011) também trabalhando com óleo essencial mostrou um efeito larvicida de até 90% contra o carrapato do boi.

A erva-de-santa-maria diminuiu em 40% a postura de ovos, enquanto que no parâmetro de eclodibilidade a redução foi de aproximadamente 30%. Todavia o extrato de ESM apresentou quase 60% de redução do índice reprodutivo, maior redução dos extratos, com exceção do fumo. A eficácia carrapaticida foi de quase 60% no extrato aquoso a 15%. Almança et al. (2013) trabalhando com extratos hexânicos de *Chenopodium ambrosioides* encontrou redução de aproximadamente 30% na postura dos ovos e índice reprodutivo. O extrato hexânico, ao contrário do aquoso testado neste estudo, não interferiu na taxa de eclodibilidade dos ovos do carrapato bovino. A eficácia encontrada por Almança et al. (2013) utilizando extrato hidroetanólico de ESM a 25% ainda foi menor do que o encontrado no presente estudo (31,87% a 59,37%). Uma possibilidade para esse acontecimento são as diferentes localidades onde os espécimes foram colhidos, idade da planta, estação do ano,

tempo de armazenagem ou outros fatores bióticos e abióticos que podem influenciar na produção dos metabólitos secundários responsáveis pelo efeito carrapaticida.

A pimenta roxa apresentou um efeito redutor de quase 40% na reprodução do carrapato bovino no presente estudo, diminuindo a postura dos ovos. Em relação a taxa de eclosão a redução foi menor, menos que 20%. O extrato de pimenta reduziu cerca de 40% o índice reprodutivo do carrapato bovino, gerando uma eficácia de 53,5% no controle desse ácaro. Não foram encontrados trabalhos na literatura sobre o efeito carrapaticida da pimenta roxa no carrapato bovino, todavia Vasconcelos et al. (2014) trabalhando com extrato etanólico de *Capsicum frutescens* encontraram eficácia de até 99,9% em carrapatos bovinos.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos é possível observar que o extrato aquoso de fumo a 15% apresenta a maior eficácia carrapaticida entre os extratos testados. Os maiores valores de fenóis totais foram encontrados no extrato da casca do cinamomo enquanto que o maior teor de flavonoides foi encontrado no extrato de erva-de-santa-maria. Através da prospecção fitoquímica realizada é possível indicar que os princípios ativos que tem ação carrapaticida varia em cada planta. São necessários mais estudos para averiguar os métodos de ação carrapaticida dos extratos vegetais das plantas estudadas no ciclo do carrapato bovino.

8. REFERÊNCIAS

ABOELHADID, S. M.; KAMEL, A A; ARAFA, W. M.; SHOKIER, K. A. Effect of *Allium sativum* and *Allium cepa* oils on different stages of *Boophilus annulatus*.

Parasitology research, v. 112, n. 5, p. 1883–90, 2013.

ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO, J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C.. Eficácia in vitro de extratos de

Chenopodium ambrosioides sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Arquivos do Instituto Biológico., v.80, n.1, p.43-49, 2013.

ALVARENGA, L.C.; PALVA, P.C.A.; BANYS, V.L.; COLLAO-SAENZ, E.A.; RABELO, A.M.G.; REZENDE, C.A.P. de. Alteração da carga de carrapatos de bovinos sob a ingestão de diferentes níveis do resíduo do beneficiamento do alho. **Ciência. agrotecnica.**, v. 28, n. 4, p. 906-912, 2004.

BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.J.; MELO, L.S.; SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; FARIA, A.F.; GOMES, N.A.; MORI, A; SILVA, N.F.. Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (MELIACEAE) sobre *Boophilus microplus* (ACARI : IXODIDAE) em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 62, p. 53–59, 2005.

BORGES, L. M. F.; SILVA, A. C.; NEVES, B. P. Teste “*in vitro*” de eficácia de cinamomo (*Melia azedarach*, L) sobre fêmeas ingurgitadas do *Boophilus microplus*, Can. (Acari: Ixodidae). **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 2, p. 175-179, 1994.

BOSLAND, P.W.; VOTAVA, E.J. Peppers: vegetable and spice Capsicums, New York: CABI Publishing, 204p. 1999.

BRUNETON, J.; Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia, Ed. Acribia, SA: Espanha, 1991.

CARRATALA R.E. Intoxicación mortal por frutos de *Melia azedarach* L. (paraíso vegetal). **Revista da Associação Médica Argentina**. v. 53, p.338-340. 1939.

CHRISTAKOPOULOS, A.; FELDHUSEN, K.; NORIN, H.; PALMQVIST, A.; WAHLBERG, I. Determination of natural levels of coumarin in different types of tobacco using a mass fragment graphic method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 40. P.1358-1361. 1992

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M.G. Are tannins a double-edged sword in biology and health. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v.9, n.4, p.168-175, 1998.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M. LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites) IN Biochemistry & Molecular Biology of plants. BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.. American Society of Plant Physiologists. p. 1306 – 1310. 2000.

FURLONG, J ; PRATA, M. C. A. ; REIS, E S ; MARTINS, J R S ; COSTA JR, L M ; COSTA, J C R . Diagnóstico in vitro da sensibilidade do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas. In: XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006, Ribeirão Preto, SP: CBPV, 2006. v. 1. p. 237-237.

GARCIA-GÓMEZ, L.; SÁNCHEZ-MUNIZ ,F. Revisión: efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición, n.50, v.3, p.219-27, 2000.<http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222000000300002&script=sci_arttext>. Acesso em 23 de dezembro de 2014.

HAN, K. K.; SOARES, J. M. J.; HAIDAR, M. A.; LIMA, G. R.; BARACAT, E. G. Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms. **Obstetrics & Gynecology**; v99, p.389-94. 2002

HINDS, J. I. D. The use of tobacco. Cumberland Presbyterian publishing house. p 1-138. Disponível em < <http://medicolegal.tripod.com/hinds1882.htm>>. Acesso em 02 de janeiro de 2015.

JORGE, L. I. F., FERRO, V. O., KOSCHAK, M. R. W.. Diagnose comparativa das espécies *Chenopodium ambrosioides* L.(erva de Santa Maria) e *Coronopus didymus* L. (mastrução): Principais características morfohistológicas e químicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n.1, p. 143-153. 1986.

JULKUNEN-TIITO, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 33:213-217.

LEAL, A. T.; FREITAS, D. R. J.; VAZ Jr., I. S. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2003.

LIMA, R.A. DE; HERNANDEZ, A.E.F. Compostos secundários: óleos essenciais e suas propriedades. <<http://www.agrosoft.org.br/agropag/103402.htm>>. Acesso em 15 de janeiro de 2015.

LINS, S.R.O.; OLIVEIRA, S.M.A.; XAVIER, A.S.; RANDAU, K.P. Prospecção fitoquímica de extratos de plantas e controle da podridão peduncular em manga. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.7, n.1, p.97-103, 2012.

LU, X.; ROSS, C. F.; POWERS, J. R.; ASTON, D. E.; RASCO, B. A. Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Garlic (*Allium sativum*) and

Elephant Garlic (*Allium ampeloprasum*) by Attenuated Total Reflectance À Fourier Transformed Infrared Spectroscopy. , p. 5215–5221, 2011.

Marins AKM et al. (2011). Prospecção fitoquímica das partes aéreas da Erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e Encontro Latino Americano de Pós Graduação, Alegre, Espírito Santo, 15: 1-5.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO-CRUZ, R.; CASTILLO-HERRERA, G.; et al. Acaricidal Effect of Essential Oils From *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 4, p. 822–827, 2011.

MASSARIOL, P.B.; OLIVO, C.J. ; RICHARDS, N.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, J.F.; FACCIO, L.; HOHENREUTHER, F.; MARTINELLI, S.. Alteração da carga de ectoparasitas em vacas da raça Holandesa submetidas a diferentes níveis de alho (*Allium sativum* L.) na alimentação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.**, Botucatu, v.11, n.1, p.37-42, 2009.

MEINERZ, G. R.; OLIVO, C. J.; AGNOLIN, C. A.; ZIECH, M. F.; SANTOS, J.; FOLETTO, V.; STEINWANDTER, E.; VENDRAME, T.. Fumo em corda no controle do carrapato de bovinos In V CBA. **Revista brasileira de agroecologia**. 2007

MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. , p. 3106–3112, 2001.

NASR, S. BEN; AAZZA, S.; MNIF, W.; MIGUEL, M. Phenol content and antioxidant activity of different young and adult plant parts of tobacco from Tunisia, dried at 40 and 70 °C. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 4, n. 08, p. 23–31, 2014.

OCHOA-ALEJO, N.; RAMÍREZ-MALAGÓN, R. In vitro pepper biotechnology. In Vitro Cellular Development Biology - Plant, v.37, p.701-729, 2001.

OLIVO, C. J.; HEIMERDINGER, A.; ZIECH, M. F.; et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1131–1135. 2009.

- PIRES JUNIOR, H. B. Efeitos toxicológicos agudos de extrato de frutos verdes de *Melia azedarach* (MELIACEAE) em ratos (*Rattus norvegicus*), camundongos (*Mus musculares*) e *Artemia salina*. 2010. 70f. Dissertação. (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B. (Org.) Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.
- SÁ, R. D., FERREIRA, M. R. A.; SANTANA, A.S.C.O., SOARES, L.A.L.; RANDAU, K.P.. Histoquímica e quantificação espectrofotométrica de flavonóides totais em folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. In XXII Simpósio de Plantas medicinais do Brasil. 2012. Bento Gonsalves – RS. Resumo.
- SCALBERT A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. v.30, p.3875-83. 1991.
- SILVA, F. A. S. ASSISTAT 7.7. UFCG, Campina Grande, 2013.
- SILVA, F. R. da. Genotoxicidade Ocasionada Pelas Folhas do Fumo (*Nicotina Tabacum*) – Expostas ou Não a Agrotóxicos – Em *Cantareus aspersus*. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.P.C.de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. São Paulo. Editora UFSC. 1999. 1102 p.
- SPENCER, J. P. E.; KUHNLE, G. C.; WILLIANS, R. J.. Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its *in vivo* metabolites. **Biochemistry**. J.v.372, p.173-181. 2003.
- VAQUERO, M. J. R.; ALBERTO, M. C.; NADRA, M.C.M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control**, v.18, p. 93-101. 2007
- VASCONCELOS, V. O.; MARTINS, M. A. D.; OLIVEIRA, N. J. F. DE; DUARTE, E. R. Effect of ethanolic extract of *Capsicum frutescens* L. on adult female of *Rhipicephalus microplus* (Ixodidae). **Parasitology research**, v. 113, n. 4, p. 1389–94, 2014.

Verpoorte, R.; Maraschin, M. Engenharia do metabolismo de plantas medicinais. In: Nunes, R.A.; Calixto, J.B. (Orgs.): Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, p.381-432. 2001

VIDOTTO, O. Complexo Carrapato -Tristeza Parasitária e outras parasitoses de bovinos. p. 1–10, 2002.

VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C.M.O. (Coord.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 1999. p.739-754.

VIVAN, M.P. Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*). 2005. 72f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

YAMADA, T.; CAMARGO E CASTRO, P.R. Efeito do glifosato nas plantas: Implicações fisiológicas e agronômicas. Encarte do Informações Agronômicas N°119. **International Plant Nutrition Institute**. p.32. 2007.

CAPÍTULO 2 : Avaliação do efeito de extratos vegetais associados a biofilmes no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Darcy Adriann Rebonato Luns¹; Vagner Tebaldi de Queiroz¹; Isabella Vilhena Freire Martins¹; Juliana Aparecida Severi¹; Adilson Vidal Costa¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Centro de Ciências Agrárias, ES, Brasil

ABSTRACT

Brazil has more than 2000 million cutting heads in their territory and the practice adopted by livestock producers exposes the animals to various parasites. The main parasite that affects livestock in the world is the cattle tick, which causes various types of damage to the animal that generate a huge loss for producers worldwide. Herbal acaricide are an alternative to conventional acaricide that can generate resistant ticks and affect the environment. In addition the use of biofilms that prevent gas exchange and release the active ingredients slowly may be a new technology used in tick control. The objective of this study was to evaluate the effect of biofilm associated with tobacco extracts, cinnamon and garlic. There were eight treatments composed of 5% garlic extract, 5% tobacco extract, 5% cinnamon extract, pure biofilm, biofilm associated with tobacco, garlic associated biofilm, biofilm associated with cinnamon, and a combination of tobacco extracts and cinnamon, both 2.5%. Control was used for reverse osmosis water. And ticks by 10 repetitions each treatment in triplicate were used. It was observed that the association between the cinnamon and the biofilm showed the best insecticide to 76.41% efficiency.

KEYWORDS: Biocarrapaticidograma. Polysaccharide film. Parasite control

RESUMO

O Brasil apresenta mais de 2000 milhões de cabeças de corte em seu território e a prática pecuária adotada pelos produtores expõe os animais a vários parasitas. O principal parasita que afeta a pecuária no mundo é o carrapato bovino, que causa diversos tipos de avarias no animal

que geram um enorme prejuízo para os produtores em todo mundo. Os carrapaticidas fitoterápicos são uma alternativa para os carrapaticidas convencionais que podem gerar carrapatos resistentes além de afetar o meio ambiente. Além disso a utilização de biofilmes que impedem trocas gasosas e liberam os princípios ativos aos poucos pode ser uma nova tecnologia empregada no controle do carrapato. Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito do biofilme associado aos extratos de fumo, cinamomo e alho. Foram oito tratamentos compostos de extrato de alho a 5%, extrato de fumo a 5%, extrato de cinamomo a 5%, biofilme puro, biofilme associado ao fumo, biofilme associado ao alho, biofilme associado ao cinamomo e uma combinação de extratos de fumo e cinamomo, ambos a 2,5% (v/v). Para o controle foi utilizado água de osmose reversa. Foram utilizados 10 teleóginas por repetições e cada tratamento em triplicata. Foi possível observar que a associação entre o cinamomo e o biofilme apresentou a melhor eficácia carrapaticida de 76,41%.

PALAVRAS-CHAVE: Biocarrapaticidograma. Filme de polissacarídeos. Controle parasitário

9. INTRODUÇÃO

O Brasil atualmente está em primeiro lugar dos maiores produtores de gado do mundo com mais de 2000 milhões de cabeças de corte no país (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2014). A prática de bovinocultura de corte é em grande parte conduzida em um regime de pasto, o que expõe o animal a diversas avarias como infecções e contaminações decorrentes de parasitas (ALVARENGA et al. 2003). O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido vulgarmente como carrapato do boi, é uma das principais espécies de parasitos que afetam a produtividade pecuária bovina no país e estima-se que aproximadamente 75% da população mundial de bovinos esteja afetada por esse parasita causando mais de um bilhão de dólares por ano de prejuízo no Brasil (RODRIGUEZ et al. 1995; BORDIN, 1998; SILVA et al. 2007).

Embora o uso de acaricidas constitua o principal método de controle do carrapato bovino (FARIAS, 1999; VARGAS et al. 2003), o manejo incorreto desses produtos pode acarretar no fracasso desse controle, em um aumento de custos, além de contaminar o ambiente e favorecer o desenvolvimento de cepas do carrapato bovino resistentes aos carrapaticidas (SANTOS JÚNIOR, FURLONG e DAEMON, 2000; SOARES, 2003).

Neste contexto, o manejo integrado de pragas (MIP) apresenta-se como uma opção ao sistema convencional (Picanço et al., 2004; Vale et al., 2004). Entretanto, para o desenvolvimento de tais sistemas de manejo devem ser realizados estudos preliminares para verificar a potencialidade de alguns métodos alternativos, entre eles, o emprego de extratos vegetais (AGUIAR-MENEZES, 2005; KATRINA et al. 2004).

O uso de plantas com atividade carrapaticida se sobressai devido à grande biodiversidade vegetal existente, é de fácil acesso aos produtores rurais, apresenta baixo custo em relação aos produtos sintéticos, além de serem biodegradáveis e causar baixa ou nenhuma contaminação no meio ambiente (HEIMERDINGER, 2005). Entre as plantas pesquisadas para atuarem como novas alternativas para o controle do carrapato bovino está o alho (*Allium sativum*), que é rico em substâncias organossulfuradas, entre elas a alicina (ANKRI; MIRELMAN, 1999), que é uma das principais responsáveis pelo efeito antiparasitário dessa planta, porém devido sua composição química, os derivados do alho podem transferir substâncias típicas do seu sabor para o leite (GLASIER, 1960).

Além do alho, outras espécies vegetais com potencial para o controle do carrapato é o cinamomo (*Melia azedarach*) com ação comprovada sobre diferentes pragas agrícolas e pecuárias (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001, BORGES et al., 2003) e o fumo (*Nicotiana tabacum*), da família Solanaceae, que destaca-se por ser um dos primeiros fitoterápicos contendo como principal princípio ativo a nicotina com ação também no controle de vários ectoparasitas (GRAINGE, AHMED, 1988; ROEL, 2002; BOIÇA JUNIOR et al., 2005).

Contudo, a aplicação prática destas substâncias no controle de pragas requer a utilização de tecnologia apropriada (KECHICHIAN, 2010). Alguns autores discutem o potencial da incorporação de substâncias vegetais em filmes biodegradáveis uma vez que os compostos ativos podem ser utilizados em menor concentração, pois são liberados gradativamente pelo biofilme (Franchetti, 2006). Esses filmes ainda apresentam boas propriedades mecânicas e organolépticas e se apresentam como uma barreira efetiva de gases como oxigênio e CO₂, impedindo as trocas gasosas (DEBEAUFORT et al. 2000).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver biofilme contendo extrato vegetal de fumo, cinamomo e alho e avaliar sua eficácia no controle do carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Além disso objetivou-se fazer um experimento exploratório afim de avaliar a eficácia carrapaticida da combinação dos extratos de fumo e cinamomo.

10. MATERIAL E MÉTODOS

10.1 Obtenção e caracterização química dos extratos vegetais

10.1.1 Material Vegetal

Foram utilizados para o preparo dos extratos amostras de três espécimes vegetais: Cinamomo (*Melia azedarach*), Fumo de corda (*Nicotiana tabacum*) e alho (*Allium sativum*).

O fumo de corda utilizado foi adquirido no comércio local. As cascas de cinamomo foram coletadas no *campus* do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). A excicata foi encaminhada para catalogação e depósito no herbário da UFES. Os bulbos de alho roxo foram provenientes do sistema de cultivo orgânico, sem a presença de agrotóxicos adquirido junto a produtores rurais da região serrana do Estado do Espírito.

10.1.2 Preparo das amostras

Os extratos aquosos foram preparados pela mistura de 15 g de material vegetal em água destilada e agitação a 200 RPM/24 h/20 °C. Após este período a mistura foi filtrada e o volume aferido com água destilada para 100 mL. Parte dos extratos foram diluídos para 5% (m/v) e o restante utilizados para a incorporação no biofilme de forma que este também apresentasse concentração de 5% de extrato vegetal (m/v). Para avaliar a existência de um possível sinergismo entre os extratos de cinamomo e fumo foi preparado uma solução contendo os dois extratos na mesma concentração. Essa solução foi preparada utilizando o 50 mL dos dois extratos a 5%, de modo que sua concentração final foi para 2,5% de ambos extratos (v/v).

10.2 Preparo dos extratos associados ao biofilme

O preparo dos extratos associados ao biofilme foi realizado segundo metodologia descrita por Carvalho (2010). Foi utilizado amido de mandioca na concentração de 3% (m/v) ao qual foram incorporados os extrato de fumo, cinamomo, alho. A concentração final do biofilme associado ao extrato foi de 5% (m/v).

10.3 Biocarrapaticidograma

10.3.1 Obtenção dos carrapatos

Os carrapatos utilizados no experimento foram coletados em bovinos da área de bovinocultura do Instituto Federal do Espírito Santo – IFES. Para a coleta os bovinos ficaram sem contato com qualquer carrapaticida durante quinze dias. Foram coletados preferencialmente carrapatos fêmeas ingurgitados com tamanho igual ou superior a 4mm.

10.3.2 Teste de eficácia dos extratos vegetais

O teste carrapaticida de imersão seguiu a metodologia descrita por Drummond (1973). Foram ao todo oito tratamentos compostos de: extrato de fumo (5% m/v); extrato de cinamomo (5% m/v); extrato de alho (5% m/v); biofilme isolado; biofilme associado ao fumo (5% m/v); biofilme associado ao cinamomo (5% m/v); biofilme associado ao alho (5% m/v); e a solução composta de extrato de fumo e cinamomo (2,5% v/v). Para o controle foi utilizado água de osmose reversa.

Os valores do índice reprodutivo (IR) e eficácia dos extratos foram obtidos através da fórmula descrita por Drummond (1973):

$$IR = \frac{\text{peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000^1}{\text{Peso das teleóginas}}$$

$$\% \text{ de eficácia} = \frac{(IR \text{ controle} - IR \text{ tratado}) \times 100}{IR \text{ controle}}$$

10.4 Análise estatística

O experimento foi construído em um delineamento inteiramente casualizado com 8 tratamentos e 1 controle. Para avaliar se existem diferenças significativas entre os tratamentos foi utilizado a análise de variância e em seguida o teste de Tukey a 5% de probabilidade para avaliar qual foi o tratamento mais eficaz. O programa estatístico utilizado foi o ASSISTAT versão 7.7 beta (SILVA, 2013).

11. Resultado e discussão

Os resultados do ensaio carrapaticida estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Médias do peso dos ovos (g), taxa de eclodibilidade dos ovos (%), índice reprodutiva e eficácia dos extratos (%) em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes soluções.

Extratos Vegetais	Peso da postura	Taxa de eclosão	Índice reprodutivo	Eficácia do extrato
Controle	0,91 a	98 a	994073 a	-
Fumo (5%)	0,62 b	72,33 abcd	498592 bcd	49,83% abc
Cinamomo (5%)	0,66 ab	91,66 ab	679037 bc	31,55% bc
Alho (5%)	0,69 ab	96 a	739888 ab	25,62% c
Fumo + Cinamomo (2,5%)	0,64 b	89,33 abc	63918 bc	35,81% bc
Biofilme	0,58 b	60 cd	403666 cd	59,53% ab
Biofilme + fumo*	0,58 b	64 bcd	413370 cd	58,34% ab
Biofilme + Cinamomo*	0,45 b	45,33 d	235370 d	76,41% a
Biofilme + alho*	0,65 b	89,66 ab	653925 bc	34,14% bc

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5% de probabilidade); *Os biofilmes incorporados aos extratos vegetais apresentam também concentração de 5% m/v.

11.1 Atividade carrapaticida dos extratos vegetais

É possível observar que não houve diferença significativa entre as eficácias carrapaticidas dos três extratos vegetais isolados. O extrato de fumo de corda isolado diminuiu em mais de 30% o peso da postura e em mais de 25% a taxa de eclodibilidade. O índice reprodutivo reduziu cerca de 50% apresentando uma eficácia final de 49,83%. Substâncias com atividades inseticidas já descobertas, como a nicotina, nornicotina e a anabasina, provavelmente

também podem estar relacionadas com essa atividade carrapaticida encontrada nos extratos de fumo no experimento (VIEIRA; FERNANDES, 1999).

Não foram encontrados ensaios *in vitro* utilizando extratos de fumo, porém trabalhando com aspersões de extrato aquoso de fumo a 1,25% (m/v) e cal ou extrato de fumo a 1,25% (m/v) e detergente, Olivo et al. (2009) encontrou em seu estudo *in vivo* uma eficácia de até 77%. Em outro estudo com aspersões de extrato aquosos de fumo em uma concentração de 5% associados à cal em vacas holandesas naturalmente infestadas, os autores encontraram uma eficiência carrapaticida superior a 60% (MEINERZ et al. 2007).

É importante ressaltar que embora o fumo apresentando alta eficácia nesses estudos *in vivo*, os animais testados apresentaram comportamentos descritos como anormais, como anorexia nos primeiros dias e sinais de apatia. Esses efeitos colaterais demonstram a importância de uma metodologia que utilize menores concentrações de fumo ainda apresentando valores ótimos de eficiência carrapaticida

O extrato de cinamomo isolado apresentou uma redução de quase 30% no peso de postura, enquanto que a taxa de eclodibilidade diminuiu cerca de 10% e o índice reprodutivo diminuiu pouco mais que 30%. Não foram encontrados na literatura ensaios carrapaticidas utilizando extratos aquosos de cinamomo, entretanto, testes de imersão realizados a partir de extratos hexânicos de frutas de cinamomo relatam o alto poder carrapaticida desse vegetal podendo chegar até 100% de eficácia carrapaticida (BORGES et al. 2008).

Na literatura os experimentos utilizando extratos a partir de solventes apolares surtiram maior efeito carrapaticida que os extratos preparados a partir de água deste experimento. Vivan (2005), trabalhando também com extratos hexânicos de diferentes partes do cinamomo, com concentração de até 0,2% (m/v), encontrou a ação desse vegetal em todas as fases de vida do carrapato analisados. A postura teve redução de 12%, a taxa de eclosão diminuiu cerca de 20% e o índice reprodutivo reduziu 50% em relação ao controle.

Borges et al. (1994) encontraram significativa redução no peso da postura e da fertilidade dos ovos do carrapato bovino quando tratados com extratos oleosos de frutos de cinamomo extraídos por clorofórmio e diluídos em água destilada de 0,25% a 1% (m/v), além de encontrar uma eficiência final de 100%. Além de estudos *in vitro*, a eficácia do cinamomo sobre o ciclo de vida do carrapato bovino já foi avaliada *in vivo* por Borges et al. (2005). Nesse estudo o extrato hexânico do fruto do cinamomo foi administrado em bezerros artificialmente infestados na concentração de 0,25% (volume de extrato/volume de água) e foi constatada uma eficiência de 63,6%.

Mesmo apresentando valores altos de eficácia carrapaticida, a utilização de solventes como o Hexano podem gerar risco para a saúde do trabalhador, do animal, além de serem muito tóxicos para o meio ambiente (FISPQ, 2015). O extrato aquoso por utilizar água como solvente apresenta apenas as características relacionadas ao vegetal utilizado para a produção da solução. É válido ressaltar que o cinamomo deve ser utilizado com parcimônia, já que o fruto e as folhas do cinamomo podem ser tóxicos tanto para o ser humano quanto para os animais (EVERIST 1974; OELRICHS et al. 1985).

O extrato de alho diminuiu cerca de 25% o peso de postura comparado ao controle e quase não apresentou eficiência na taxa de eclodibilidade. O índice reprodutivo foi reduzido em 25% no extrato puro e cerca de 35% no biofilme associado ao alho. Não foram encontrados na literatura trabalhos de ensaios carrapaticidas *in vitro* utilizando extratos aquosos de alho. Martinez-Velazquez et al. (2011) avaliaram a eficácia larvicida no carrapato bovino de três espécies vegetais, incluindo o alho roxo. O estudo utilizando óleo essencial nas concentrações de 1,25% a 20% encontrou através do ensaio um efeito larvicida de 90%, demonstrando a toxidez do alho nesse estágio do carrapato.

O óleo essencial do alho também já foi avaliado no controle do *Boophilus annulatus* em extratos oleosos com eficácias de até 100%. Nesse estudo foram utilizados diferentes solventes e concentrações de óleos, sendo que os óleos com 5% de concentração já apresentaram alto poder carrapaticida. O efeito do alho nesse estudo foi demonstrado na ação acaricida, matando os carrapatos e larvas testados em menos de 24 horas, além de causar deformidade na forma e cor além de afetar a capacidade dos ovos de chocar (ABOELHADID et al., 2013).

Metodologias utilizando beneficiamento do resíduo de alho por meio da ingestão também demonstram sua eficiência em experimentos *in vivo*, todavia o uso indiscriminado deste na dieta do animal pode gerar resíduo na carne e no leite (ALVARENGA et al., 2004; MASSARIOL et al., 2009).

A combinação do extrato de fumo com o cinamomo na concentração de 2,5% (v de ambos extratos/v de água) apresentou resultados estatisticamente iguais aos extratos isolados com o dobro da concentração (5% m/v). A solução diminuiu cerca de 20% no peso da postura, 40% na taxa de eclodibilidade, e reduziu pela metade o índice reprodutivo, não apresentando diferença significativa em nenhuma dessas variáveis quando comparados aos extratos com concentração de 5%. Esses valores podem indicar um possível sinergismo entre os dois extratos que afetam negativamente a reprodução do carrapato bovino.

Como descrito anteriormente, o fumo e o cinamomo apresentam alto grau de toxidez podendo afetar a saúde dos animais tratados com o seu uso abusivo. Se houver, de fato, um

sinergismo entre os extratos de fumo e cinamomo, soluções menos concentradas poderão ser utilizadas e ainda apresentarão um alto poder carrapaticida, diminuindo os riscos de intoxicação dos animais tratados. Além disso, por se tratar de dois extratos, há participação de vários princípios ativos atuando concomitantemente, o que dificulta ainda mais o processo de resistência do carrapato bovino ao tratamento.

11.2 Atividade carrapaticida do biofilme

O biofilme puro apresentou altos valores de atividade carrapaticida mesmo não associado a nenhum extrato vegetal. Isolado o biofilme reduziu cerca quase 40% a postura e a taxa de eclodibilidade do carrapato bovino. O índice reprodutivo caiu cerca de 60%, apresentando uma eficácia geral também de quase 60%. É desconhecido como os princípios ativos dos extratos vegetais atuam na reprodução do carrapato bovino, porém foi possível observar durante o experimento os carrapatos que foram tratados com esta matriz polimérica apresentaram uma redução de mobilidade devido a impregnação do biofilme. Uma possibilidade para que o biofilme tenha apresentado valores tão altos quanto os extratos ou maiores é que o carrapato encapsulado no biofilme tenha dificuldade de fazer trocas gasosas, já que o mesmo é um parasita aeróbio obrigatório (MONTEIRO, 2011).

Embora o encapsulamento do carrapato no biofilme pudesse prejudicar a postura do carrapato bovino, houve também a diminuição da taxa de eclodibilidade, demonstrando que o filme atingiu também a viabilidade desses ovos, mesmo eles não estando em contato com o filme. Uma possível explicação para isso é que o biofilme agiu na produção desses ovos, gerando embriões possivelmente inviáveis que não nasceriam.

11.3 Atividade carrapaticida do biofilme associado aos extratos

Ao contrário dos demais biofilmes, que não apresentaram diferença significativa de atividade carrapaticida com os seus respectivos extratos puros, o extrato de biofilme associado ao cinamomo apresentou o maior valor de eficácia carrapaticida encontrada nesse trabalho com 76,1% de eficácia de extrato. Além disso o biofilme apresentou uma redução de quase 80% do índice reprodutivo em relação ao controle e uma redução de quase 45% na taxa de

eclodibilidade, enquanto que o extrato isolado apresentou reduções de cerca de 30% e 8% respectivamente.

Uma das possíveis explicações para esse efeito do biofilme no extrato de cinamomo, além de ser uma barreira impedindo trocas gasosas, é que após a reação de polimerização do biofilme os princípios ativos do extrato provavelmente se encontravam em concentração apropriada e disponíveis para agir ocasionando a mortalidade das fêmeas, além de afetar a produção de ovos e o desenvolvimento do embrião.

Os biofilmes associados ao fumo não diferiram significativamente em nenhuma das variáveis com o extrato isolado e com o biofilme. Isso pode indicar que nessa concentração não faz diferença utilizar o extrato isolado, o biofilme puro ou o biofilme associado ao extrato de fumo, que os três apresentarão a mesma eficácia carrapaticida. Uma possível explicação para o biofilme não apresentar um efeito aditivo ao extrato isolado é que as moléculas dos princípios ativos devem encontrar-se em baixa concentração no extrato e podem ter sido incorporadas na matriz durante a reação para formação do filme, assim apenas a característica física do filme atuante seria a barreira de trocas gasosas.

O biofilme associado ao extrato de alho não diferiu significativamente de nenhuma variável do extrato de alho isolado, porém quando comparado ao biofilme puro é possível notar que a taxa de eclodibilidade de ambos diferem. No filme puro a taxa de eclodibilidade é de 60%, enquanto que no biofilme associado ao extrato de alho, a taxa de eclodibilidade subiu para 89,66%. Isso indica que o biofilme associado ao extrato perdeu parte de sua propriedade de inviabilizar os ovos do carrapato bovino. Uma provável explicação para isso é que durante o processo de incorporação, o extrato pode ter afetado as propriedades do biofilme, entre elas, a barreira de trocas gasosas e elasticidade do mesmo.

12. Conclusão

Através do experimento foi possível observar que a incorporação do extrato de cinamomo em biofilme promoveu um aumento na atividade carrapaticida em condições *in vitro*. Além disso a atividade carrapaticida da solução de extrato de cinamomo com extrato de fumo a 2,5% (v/v) não apresentou diferença significativa dos extratos isolados a 5%, podendo ser um indício de um provável sinergismo entre os dois extratos. Pretende-se em estudos futuros determinar o efeito residual do extrato de cinamomo associado ao biofilme para avaliar seu

potencial em assegurar a liberação controlada dos princípios ativos desse extrato. São necessários também mais estudos sobre a combinação desses extratos no controle do carrapato bovino para avaliar se existe ou não um sinergismo entre os extratos aquosos dessas plantas.

Espera-se que os resultados encontrados possam vir a contribuir para o Programa de Manejo Integrado de Pragas afim de reduzir a quantidade de agrotóxicos utilizados, diminuindo os impactos ao animal e ao meio ambiente.

13. REFERÊNCIAS

- AGUIAR-MENEZES, E. L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 58 p. (Documentos, 205). 2005.
- ALVARENGA, L.C.; PALVA, P.C.A.; BANYNS, V.L.; COLLAO-SAENZ, E.A.; RABELO, A.M.G.; REZENDE, C.A.P. de. Alteração da carga de carrapatos de bovinos sob a ingestão de diferentes níveis do resíduo do beneficiamento do alho. **Ciência agrotecnica.**, v. 28, n. 4, p. 906-912, 2004.
- ABOELHADID, S. M.; KAMEL, A A; ARAFA, W. M.; SHOKIER, K. A. Effect of *Allium sativum* and *Allium cepa* oils on different stages of *Boophilus annulatus*. **Parasitology research**, v. 112, n. 5, p. 1883–90, 2013.
- ANKRI, S.; MIRELMAN, D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. **Microbes and Infection**, v.1, n.2, p.125-9, 1999.
- BOIÇA JUNIOR et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plantella xilostella* em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.1, p.45-50, 2005.
- BORDIN, E. L. Carrapatos – Uma abordagem diferenciada. **A hora veterinária**, n.103, p. 23-28. 1998.
- BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.J.; MELO, L.S.; SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; FARIA, A.F.; GOMES, N.A.; MORI, A; SILVA, N.F.. Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (MELIACEAE) sobre *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 62, p. 53–59, 2005.

BORGES, L. M. F.; SILVA, A. C.; NEVES, B. P. Teste “in vitro” de eficácia de cinamomo (*Melia azedarach*, L) sobre fêmeas ingurgitadas do *Boophilus microplus*, Can. (Acari: Ixodidae). **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 2, p. 175-179, 1994.

BORGES, L. M. F. et al. In vitro efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. **The Royal Entomological Society Medical and Veterinary Entomology**. v.17, p.228-231, 2003.

BRUNHEROTTO, R. & VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. e *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidóptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, 30, p455-459, 2001.

CARVALHO, R.S. Método para quantificar CO₂ liberado em frutos infestados com mosca das frutas e tratados com biofilme de amido. In: Embrapa Comunicado Técnico, 142. Cruz das Almas, BA. 2010.

DEBEAUFORT, F. QUEZADA-GALLO, J. A.; DELPORTE, B.; VOILLEY, A.. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. **Journal of membrane science**, v.180, p. 47 – 55, 2000.

EVERIST S.L. **Poisonous Plants of Australia**. Angus and Roberts Pty, Sydney, Australia, p.368-369. 1974.

FARIAS, N.A.R. Situação de la resistêcia de la garrapata *Boophilus microplus* em la região sur de Rio Grande Del Sur, Brazil. **Anais IV Seminário Internacional de Parasitologia Animal**, Puerto Vallarta, México, p.25-30. 1999.

FISPQ - Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos. Disponível em <<http://www.br.com.br/wps/wcm/connect/2a3a300043a79e0ebbc6bfec2d0136c/fispq-quim-alif-hexanobr.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em 01 de fevereiro de 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em <<http://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em: 12 de dezembro de 2014.

Franchetti, S. M. M. & Marconato, J. C. Biodegradable polymers – a partial way for decreasing the amount of plastic waste. **Química Nova**, Vol.29, No.4, p. 811-816. 2006.

- GLAZIER, Z.R. Milk Flavor Improvement. Connecticut: Connecticut Agricultural Extension. 10p. (Boletim técnico, 10). 1960.
- GRAINGE, M.; AHMED, S. Handbook of plants with pest control properties. New York: John Wiley, 470p. 1988.
- HEIMERDINGER, A.; OLIVO, C.J.; MOLENTO, M.B.; AGNOLIN, C.A.; ZIECH, M.F.; SCARAVELLI, L.F.B.; SKONIESKI, F.R.; BOTH, J.F.; CHARÃO, P.S. Extrato alcoólico de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 37-39, 2006.
- KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biologico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).
- KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. *Food Science and Technology*, v.43, p.1088-1094, 2010.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO-CRUZ, R.; CASTILLO-HERRERA, G.; et al. Acaricidal Effect of Essential Oils From *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 4, p. 822–827, 2011.
- MASSARIOL, P.B.; OLIVO, C.J. ; RICHARDS, N.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, J.F.; FACCIO, L.; HOHENREUTHER, F.; MARTINELLI, S.. Alteração da carga de ectoparasitas em vacas da raça Holandesa submetidas a diferentes níveis de alho (*Allium sativum* L.) na alimentação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s., Botucatu, v.11, n.1, p.37-42, 2009.
- MEINERZ, G. R.; OLIVO, C. J.; AGNOLIN, C. A.; ZIECH, M. F.; SANTOS, J.; FOLETTO, V.; STEINWANDTER, E.; VENDRAME, T.. Fumo em corda no controle do carrapato de bovinos In V CBA. **Revista brasileira de agroecologia**. 2007
- RODRIGUEZ, M.; MASSARD, C.L.; DA FONSECA, A.H.; RAMOS, N.F.; MACHADO, H.; LABARTA, V.; DE LAFUENTE, J. Effect of vaccination with a recombinant Bm86 antigen preparation on natural infestations of *Boophilus microplus* in grazing dairy and beef pure and cross bred cattle in Brazil. **Vaccine**, v. 13, n.18, p. 1804-1808, 1995.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, n.2, p.43-50, 2002.

OELRICHS P.B., HILL M.W., VALLELY P.J., MACLEOD J.K. & MOLINSKI T.F. The chemistry and pathology of meliatoxins A and B constituents from the fruit of *Melia azedarach* L. var. *australasica*, p.387-394. In: SEAWRIGHT A.A., HEGARTY M.P. & JAMES L.F. (ed.) **Plant Toxicology**. Queensland Poisonous Committee, Yeerongpilly, Australia. 1985.

OLIVO, C. J.; HEIMERDINGER, A.; ZIECH, M. F.; et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1131–1135. 2009.

PICANÇO, M.C.; PAULA, S.V.; MORAES JÚNIOR, A. R.; OLIVEIRA, I. R.; SEMEÃO, A. A.; ROSADO, J. F.. Impactos financeiros da adoção de manejo integrado de pragas na cultura do tomateiro. **Acta Scientiarum Agronomy**. n.26, p.245-252. 2004.

SANTOS JÚNIOR, J. C.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (acari:Ixodidae) em sistemas de produção de leite da microrregião fisiográfica Fluminense do grande Rio-Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 305-311, 2000.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT 7.7. UFCG, Campina Grande, 2013.

SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; ARAÚJO, G. M. B.; SANTOS, V. D.; NETO, A. B. S.; COELHO, M. C. O. C.; MARINHO, M. L. Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 1-5, 2007.

SOARES, M. C. S. C. Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

VARGAS, M.S., CÉSPEDES, N.S., SÁNCHEZ, H.F., MARTINS, J.R.; CÉSPEDES, C.O.C. Avaliação in vitro de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à Amitraz. **Ciência Rural**. N. 33. v. 4, p.737-742. 2003.

VIVAN, M.P. Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*). 2005. 72f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

ANEXO A

Avaliação do efeito de extratos vegetais associados a biofilmes no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* está de acordo com as normas da revista Parasitologia Veterinária

ANEXO B

Referência Bibliográfica da revisão de literatura.

AGNOLIN, C. A. Avaliação de óleos essenciais de capim limão, citronela e eucalipto no controle do carrapato. 2012. 83 f. Tese (Doutorado do programa de pós-graduação em Zootenia. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. 2012.

ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO, J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C.. Eficácia *in vitro* de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre teleóginas de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Arq. Inst. Biol.**, v.80, n.1, p.43-49,, 2013.

ALVARENGA, L.C.; PALVA, P.C.A.; BANYS, V.L.; COLLAO-SAENZ, E.A.; RABELO, A.M.G.; REZENDE, C.A.P. de. Alteração da carga de carrapatos de bovinos sob a ingestão de diferentes níveis do resíduo do beneficiamento do alho. **Ciência agrotectécnica**, v. 28, n. 4, p. 906-912, 2004.

BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLLINGE, W.H.. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science**, 228: 1154-1160. 1985.

BARROS, A.T.M. de; EVANS, D.E. Ação de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos, *Boophilus microplus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.9, n.1/2, p.17-21, 1989.

BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.J.; MELO, L.S.; SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; FARIA, A.F.; GOMES, N.A.; MORI, A; SILVA, N.F.. Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (MELIACEAE) sobre *Boophilus microplus* (ACARI : IXODIDAE) em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 62, p. 53–59, 2005.

BORGES, L.M.F.; da SILVA, A.C.; das NEVES, B.P. Teste “in vitro” de eficácia do cinamomo (*Melia azedarch* L .) sobre fêmeas ingurgitadas do *Boophilus microplus*, can (ACARI : IXODIDAE). **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 2, p.175-179, 1994.

BRITO, L. G. Carrapatograma: um aliado do produtor na exploração leiteira. 2010. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.phd?id=23487>. Acesso em: 27 out 2014.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; DIAS, N.S.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L.A. de; LOPES, D.O.P.; SANTOS, J.M. dos; Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 44-48. 2010.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E. C. N.; SOUZA, L. A. DE; DIAS, N. D. S.; ARAÚJO, A. M. N. DE. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 04, p. 44–48, 2009.

BRUM, J.G. Carrapato dos Bovinos, In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. D.C.; LEMOS, R. A. A. Doenças dos ruminantes e eqüinos, São Paulo: Varela,572p., 2003.

CAMILLO, G. et al. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.490-495, 2009.

CAMPOS JÚNIOR, D.A.; OLIVEIRA, P.R. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1386-1392, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000600025>. Acesso em: 24 set. 2014. doi: 10.1590/ S0103-84782005000600025.

CHAGAS, A. C. DE S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus spp* em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 247–253, 2002.

CHIANG, L. C.; CHIANG, W.; LIU, M. C.; LIN, C. C. *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 194–198, 2003.

CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**,v.35, p.1-83, 1995.

CORDOVÉS, C.O. **Carrapato: controle ou erradicação**. Guaíba: Agropecuária. p 176. 1997.

CUNHA e SILVA, S.L. da; CARVALHO, M.G. de; GUALBERTO, S.A.; CARNEIRO-TORRES, D.S.; VASCONCELOS, K.C.F. de; OLIVEIRA, N.F. de. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* MULL. ARG. (EUPHORBIACEAE) sobre *Cochliomyia macellaria* (DIPTERA:CALLIPHORIDAE). **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.4, p.252-258, 2010.

CUTULLÉ, C.; JONSSON, N.N.; SEDDON, J. Population structure of Australian isolates of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.161, p. 283–291, 2009.

DEQUECH, S.T.B.; STURZA, V.S.;RIBEIRO, L.do P.; SAUSEN, C.D.; EGEWARTH, R.; MILANI, M.; SCHIRMANN, J.. Inseticidas botânicos sobre *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera : Agromyzidae) e seus parasitóides em feijão-de-vagem cultivado em estufa. **Biotemas**. v. 23, n. 2, p. 37–43, 2010.

DOUBE, M.B.; KEMP, D.H.; The influence of temperature, relative humidity and host factors on the attachment and survival of *Boophilus microplus* (Canestrini) Larvae to skin slices. **International Journal for Parasitology**, v.9, p. 449-454, 1979.

EVANS, W.C. **Trease and Evan's pharmacognosy**. 14 ed. Londres: WB Saunders, 1996. 612 p.

FARIAS, M.P.O.; SOUSA, D.P.; ARRUDA, A.C.; ARRUDA, M.S.P.; WANDERLEY, A.G.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G.. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de plantas medicinais.**, v.9, n.4, p.68-71, 2007.

FARIAS, N.A. Situación de la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* em la región sur de Rio Grande Del Sur, Brazil. In: **Seminário Internacional de Parasitologia Animal**, 4., Puerto Vallarta, Mexico. Anais... PuertoVallarta: CONASAGA. p.25-30. 1999.

FARIAS, N.A.R.; RUAS, J.L.; SANTOS, T.R.B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região Sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p 1700-1704, 2008.

- FELICIANO, A. S.; PÉREZ, A. L.; OLMO, E. D. **Manual de determinación estructural de compuestos naturales**. Bogotá: Programa Iberoamericano de Ciencia e Tecnología, 2007. 617 p.
- FERRETTO, R. **Revisão de literatura sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Porto Alegre. 2013.
- FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico-veterinária**. 2. ed. São Paulo: Nobel,. p. 197. 1990.
- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 2. Ed., Porto Alegre: Sulina. 1993, 606p.
- FRAGOSO, H.; JOÃO, S.; MARTINS, R.; OCTÁVIO, C.; CÉSPEDES, C. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari : Ixodidae) resistente à Amitraz. , p. 737–742, 2003.
- FRISCH, J.E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for parasitology**, v.29, n.1, p.57-71, 1999.
- FURLONG, J. et al. Diagnóstico *in vitro* da sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a acaricidas. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 8, Ouro Preto: Revista Brasileira de Parasitologia, p.305. 2004.
- FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. 65 p.
- FURLONG, J ; PRATA, M. C. A. ; REIS, E S ; MARTINS, J R S ; COSTA JR, L M ; COSTA, J C R . Diagnóstico *in vitro* da sensibilidade do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas. In: **XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006**, Ribeirão Preto, SP: CBPV, 2006. v. 1. p. 237-237.
- FURLONG, J.; SALES, R.O.. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. **Revista Brasileira de higiene e sanidade animal**, v.01, n. 02, p. 44-72. 2007.
- GOMES, A. **Carrapato-de-boi: prejuízo e controle**. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD42.html>>. Data de acesso: 20 de agosto de 2014.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; THADEU, A.; BARROS, M. DE. Suscetibilidade de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul.

Ciência Rural. v.41, n.8, Santa Maria. 2011.

GRISI L, MASSARD CL, MOYA BORJA GE, PEREIRA JB. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **Hora Veterinaria**, v. 21, n.125, p.8-10, 2002.

HARBORNE, J. **Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. London: Chapman e Hall, 1998. 302 p.

HORN, S.C. e ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. **Hora Veterinária**, v. 23, p.12-32, 1985.

HOSTETTMAN, K.; MARSTON, A.; MAILLARD, M.; HAMBURGER, M.

Phytochemistry of plants used in traditional medicine. Clarendon Press. 1995, 424 p.

GRISI, L. et al .Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 23, n. 2, 2014.

IANNACONE, J.; LAMAS, G.. Efecto de dos extractos botanicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 65, p. 92–101. 2002.

KANADASWAMI, C.; LEE, L.; LEE, P. H.; et al. The Antitumor Activities of Flavonoids. **In Vivo**. v. 910, p. 895–909, 2005.

KUTCHAN, T. Alcaloid biosynthesis - the basis for metabolic engineering of medicinal plants. **Plant Cell.**, v.7, p. 1059-1070, 1995.

MARCELA, A. S.; MICHELE, F.; SÔNIA, S. Flavonoids : Potential therapeutic agents for the inflammatory process. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241–256, 2009.

MARIA, S. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1700-1704. 2008.

MARQUES, A. O.; ARANTES, G. J.; SILVA, C.R. Avaliação da eficácia da ivermectina a 1% (solução injetável), no tratamento de bovinos naturalmente

infestados pelo carrapato *Boophilus microplus* (canestrini, 1887) (acari: ixodide) e mantidos em pastagem. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.4, n.2, p. 117-119, 1995.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, LC; VARGAS, MI; PATARROYO, JH; TAFUR, GA; MURTA, D. Resposta de linfonodos em bovinos inoculados a campo com a vacina recombinante rSBm7462 anti *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v.34, n.6, p.503-508, 2014.

MASSARIOL, P.B.; OLIVO, C.J.; RICHARDS, N.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, J.F.; FACCIO,; HOHENREUTHER, F.; MARTINELLI, S.. Alteração da carga de ectoparasitas em vacas da raça Holandesa submetidas a diferentes níveis de alho (*Allium sativum* L.) na alimentação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 1, p. 37–42, 2009.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

MENDES, M.C.et al. Determinação da frequência de realização de bioensaios para o monitoramento da resistência do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.2, p.87-93, 2007.

MERLINI, L. S.; YAMAMURA, M. H. Estudo in vitro da resistência de *Boophilus microplus* à acaricidas na pecuária leiteira do Norte do Estado do Paraná. **Semina, Ciências Agrárias**, Londrina, v. 19, n. 1, p.38-44, 1998.

MONTEIRO, S.G.. **Parasitologia na Medicina Veterinária**.1 ed. São Paulo: Roca. 2011. 356 p.

MURRELL, A.; BARKER, S.C.. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, Dordrecht, v. 56, n.3, p. 169-172, 2003.

LEAL, A. T.; FREITAS, D. R. J.; VAZ Jr., I. S. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2003.

OLIVO, C. J.; AGNOLIN, C. A.; PARRA, C. L. C.; et al. Efeito do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) no controle do carrapato bovino. **Ciência Rural**, v. 43 , n. 2, p. 331–337, 2013

- OLIVO, C. J.; HEIMERDINGER, A.; ZIECH, M. F.; et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1131–1135. 2009.
- PATARROYO J. H.; LOMBANA, C. G. Resposta imune a vacinas sintéticas anti *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 129–134, 2004.
- PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. 2004. p. 1-10.
- PRATES, H.T.; OLIVEIRA, A.B.; LEITE, R.C.; CRAVEIRO, A.A.. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.5, p. 621-625. 1993.
- PRUETT.J.H.; POUND, J.M. Biochemical diagnosis of organophosphate-insensitivity with neural acetylcholinesterase extracted by sonication from the adult tick synganglion. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 3-4, p. 355-363, 2006.
- RAAMAN, N. **Phytochemical Methods**. New Delhi: Nem India Publishing Agency. 2006, 295p.
- RODRIGUES DS, LEITE RC. Economic impact of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: estimate of decreased milk production on a dairy farm. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.65, n.5, p.1570-2, 2013.
- RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; RODRÍGUEZ-AZAREVALO, F.; ALONSO-DÍAZ, M.A.; FRAGOSO-SANCHEZ, H; SANTAMARIA, V.M.; ROSARIO-CRUZ, R. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the State of Yucatan, Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v.75, n.3-4, p. 280-286, 2006.
- ROEL, A.R.. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**. v. 1, p. 43–50, 2001.
- RHODES, M.J.C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: from progress, many outstanding problems. **Plant Molecular Biology**., v.24, n. 1, p.1-20, 1994.

- SANTOS, A.C.G. dos; RODRIGUES, O.G., SANTOS, S.B.; GUERRA, R. de M.S.N. de; FEITOSA, M.L.; TEIXEIRA, W.C.; SANTOS-RIBEIRO, A.. Uso de Extrato de Nim no Controle de Acariase por *Myobia musculi* Schranck (Acari : Miobidae) e *Myocoptes musculinus* Koch (Acari : Listrophoridae) em Camundongos (*Mus musculus* var . albina L.). **Neotropical Entomology**. n. April, p. 269–272, 2006.
- SANTOS, A. V.; APARECIDA, R.; OLIVEIRA, D.; RÉGO, G. Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* , **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 34, n. 2, p. 111–115, 2012.
- SANTOS, F. C. C. dos; VOGEL, F. S. F.; MONTEIRO, S. G. Efeito do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* em ensaios *in vitro*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p. 1133–1140, 2012.
- SANTOS, F.C.C. dos; VOGEL, F.S.F.; ROLL, V.F.B.; MONTEIRO, S.G.. In vitro effect of the association of citronella, santa maria herb (*Chenopodium ambrosioides*) and quassia tincture on cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Ciência Animal Brasileira.**, v.14, n.1, p. 113-119, 2013.
- SANTOS, M.A.I. dos..Folhas de mandioca: caracterização de compostos fenólicos, atividades antioxidantes e inseticida. **Dissertação** (Pós graduação em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais. 2013
- SHAH, A. S. **Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry**. New Delhi:Elsevier, 2010. 604p.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.P.C.de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. São Paulo. Editora UFSC.1999.1102 p.
- SOUZA, L.A.D. de; SOARES, S.F.; JÚNIOR, H.B.P.; FERRI, P.H.; BORGES, L.M.F.. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 36-40. 2008.
- TORRES, F. C. **Avaliação da atividade carrapaticida das frações dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus*), alecrim (*Rosmarinus***

officinalis) e aroeira (*Schinus molle*). 2010, 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

VIDOTTO, O. **Complexo Carrapato -Tristeza Parasitária e outras parasitoses de bovinos.**, p. 1–10, 2002.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**, Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p 306, 1990.

WILKINSON, P. R.; Factors affecting the distribution and abundance of the cattle tick in Australia: observations and hypothesis. **Acarologia**, v. 10, p. 492-508, 1970.

WANG, F.; CHEN, J.; CHEN, H.; TANG, Z.; ZHANG, G.; NIU, A.; PANG, S.; WANG, X; LEE, F.S. Multi-residue method for the confirmation of four avermectin residues in food products of animal origin by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Additives and Contaminants**, v. 28, n.5, 627–639, 2011.

WILLADSEN, P. **Tick control: thoughts on a research agenda**. *Veterinary parasitology*, v. 138, n. 1-2, p. 161–8, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16497440>>. Acesso em: 8/8/2014.

WIXOM, R. L.; GEHRKE, C. W. **Chromatography: a science of Discovery**. New Jersey: John Wiley e Sons. 2010. 411p.

ZHIOUA, E.; HEYER, K.; BROWNING, M.; GINSBERG, H.S.; LEBRUN, R.A. Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* variety Kurstaki to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.36, n.6, p.900-902, 1999.