

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITO ACARICIDA
DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Tagetes minuta* LINNAEUS
(ASTERACEAE) EM DIFERENTES ESPÉCIES DE
CARRAPATOS**

Jaqueline Matias dos Santos

CAMPO GRANDE, MS
2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITO ACARICIDA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Tagetes minuta* LINNAEUS
(ASTERACEAE) EM DIFERENTES ESPÉCIES DE
CARRAPATOS**

**CHEMICAL CHARACTERISATION OF *Tagetes minuta* LINNAEUS
(ASTERACEAE) ESSENTIAL OIL AND ITS ACARICIDE EFFECT ON
DIFFERENT SPECIES OF TICKS**

Jaqueline Matias dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Renato Andreotti e Silva

Dissertação apresentada á Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito á obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS 2013

Jaqueline Matias dos Santos

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITO ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Tagetes minuta LINNAEUS (ASTERACEAE) EM DIFERENTES ESPÉCIES DE
CARRAPATOS**

**CHEMICAL CHARACTERISATION OF *Tagetes minuta* LINNAEUS (ASTERACEAE)
ESSENTIAL OIL AND ITS ACARICIDE EFFECT ON DIFFERENT SPECIES OF TICKS**

Dissertação apresentada á Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestra.

Área concentração: Saúde Animal.

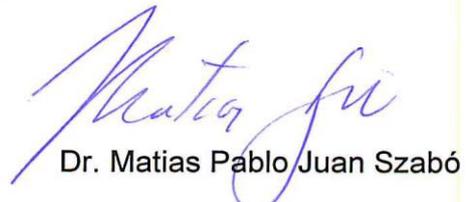
APROVADA: 07/02/2013



Dr. Renato Andreotti e Silva
Orientador



Dr. Fernando de Almeida Borges



Dr. Matias Pablo Juan Szabó

À minha família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Renato Andreotti, pela oportunidade de fazer parte de sua equipe e por seu exemplo de dedicação à pesquisa.

Ao Dr. Marcos Valério Garcia e a M. Sc. Jacqueline Cavalcanti Barros pela amizade e colaboração na realização das pesquisas efetuadas.

Ao Dr. Wilson Werner Koller pelo apoio, sugestões e amizade.

A toda a equipe que contribuiu para o sucesso dos trabalhos executados.

Ao Martins e o Ronny, grandes amigos que contribuíram desde o começo com o seu apoio para que esta conquista se realizasse.

"Nossas escolhas determinam os caminhos da nossa existência."

Carlos Hilsdorf

Resumo

AUTOR, Jaqueline Matias. Caracterização química e efeito acaricida do óleo essencial de *Tagetes minuta* Linnaeus (asteraceae) em diferentes espécies de carrapatos. Ano. 2013 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

O controle de carrapatos se faz necessário devido ao seu impacto na saúde e produção animal. O objetivo deste estudo foi caracterizar o óleo essencial de *Tagetes minuta* e avaliar suas propriedades acaricidas em quatro espécies de carrapatos encontrados no Brasil. As espécies aqui utilizadas foram: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *R. sanguineus*, *Amblyomma cajennense* e *Argas miniatus*. A composição química do óleo essencial foi determinada por meio de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG-EM) e análises de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), que revelaram a presença de monoterpenos. Na avaliação quanto à eficácia do óleo essencial de *T. minuta* e óleo de nim, no controle do carrapato, foram empregados os Testes de Imersão de Adultos (TIA) e o de Pacote de Larvas (TPL) nas concentrações de 2,5%; 5%; 10%; 20% e 40%. As concentrações utilizadas das formulações comerciais usadas no controle de carrapatos foram às recomendadas pelos fabricantes. Os resultados do TPL e TIA demonstraram que o óleo essencial de *T. minuta* apresenta eficácia superior a 95% em quatro espécies de carrapatos. Os resultados dos TPL e TIA para a atividade acaricida do óleo de nim (*Azadirachta indica*) mostraram-se somente eficazes para *A. miniatus* e na concentração a partir de 5%. A eficácia do óleo essencial de *T. minuta* como acaricida na concentração de 20% foi semelhante à dos produtos comerciais. Estes resultados sugerem que o óleo essencial de *T. minuta* pode ser usado como um acaricida.

Palavras-chave: *Tagetes minuta*, carrapatos, fitoterápico, controle.

Abstract

AUTOR, Jaqueline Matias. Chemical characterisation of *Tagetes minuta* Linnaeus (asteraceae) essential oil and its acaricide effect on different species of ticks. Ano. 2013 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

The control of ticks is necessary due to its impact on livestock and economic losses caused to animal production. This study aims to test, in addition to commercial products and the neem oil, the acaricide effect of the essential oil from the leaves and stems of the *Tagetes minuta* in different species of ticks found in Brazil, in particular *Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *Amblyomma cajennense* and *Argas miniatus*. The chemical composition of the essential oil was determined by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS) and Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy analysis, which revealed the presence of monoterpenes. The adult immersion test (AIT) and the larval packet test (LPT) for *T. minuta* oil extract and neem oil at concentrations of 2.5, 5, 10, 20 and 40% were evaluated for the efficacy of these substances in tick management. The concentrations utilized commercial formulations used for tick control were those recommended by the manufacturer. The results of the TPL and AIT showed that the essential oil of *T. minuta* presents effectiveness exceeding 95% in four species of ticks. The results of the LPT and AIT to the acaricide activity of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulations proved to be effective only against *A. miniatus*, and at concentrations equal or higher than 5%. The efficacy at a 20% concentration of *T. minuta* essential oil as an acaricide was similar to that of the commercial products. These results suggest that the essential oil of *T. minuta* can be used as an acaricide.

Keywords: *Tagetes minuta*, ticks, phytotherapeutic, control.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
Espécies de carrapatos utilizados no estudo	10
1. <i>Rhipicephalus microplus</i>	10
1.1. Classificação	10
1.2. Distribuição geográfica	11
1.3. Ciclo biológico	11
1.4. Importância	12
2. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	13
2.1. Classificação	13
2.2. Distribuição geográfica	14
2.3. Ciclo biológico	14
2.4. Importância	15
3. <i>Amblyomma cajennense</i>	15
3.1. Classificação	15
3.2. Distribuição	16
3.3. Ciclo Biológico	16
3.4. Importância	17
4. <i>Argas miniatus</i>	17
4.1. Classificação	18
4.2. Distribuição geográfica	18
4.3. Ciclo biológico	19
4.4. Importância	19
5. Tipos de controle	19
5.1. Produtos químicos convencionais	20
5.2. Controle biológico	20

5.3. Vacina.....	21
5.4. Fitoterápicos	22
6. <i>Tagetes minuta</i>	24
REFERÊNCIAS	26
ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINADO PELA PESQUISA	36
Abstract.....	36
Resumo	37
Introdução	37
Material e métodos.....	39
Local de estudo.....	39
Planta e extração.....	40
Óleo essencial – Cromatografia gasosa (GC) e Espectrometria de Massa (MS)....	40
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear – RMN	41
Bioensaio.....	41
Teste de imersão de adultos – TIA.....	41
Teste do Pacote de Larvas – TPL.....	42
Resultados	43
Cromatografia do extrato de óleo.....	43
Espectros de NMR	43
Bioensaio.....	43
Discussão	44
Conclusão.....	47
Agradecimentos	47
Referências.....	47

INTRODUÇÃO

Carrapatos são parasitas hematófagos obrigatórios (FREIRE, 1972) frequentemente encontrados na maioria dos animais vertebrados, e que podem transmitir uma grande variedade de agentes patogênicos (ESTRADA-PENA; JONGEJAN, 1999). São considerados, depois dos mosquitos, o primeiro grupo de artrópodes ectoparasitos a transmitirem a maior variedade de agentes patogênicos aos seres humanos e ocupam o primeiro lugar na transmissão de patógenos aos animais domésticos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; OGRZEWALSKA, 2009). Pertencem ao filo Arthropoda, classe Arachnida, ordem Acari e subordem Ixodida e apresentam uma ampla distribuição geográfica sendo encontrados em todos os continentes do mundo.

Avalia-se que estes artrópodes surgiram há aproximadamente 240 milhões de anos, durante o período triássico (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006). Existem relatos que esses parasitas coabitam a terra desde o final do período paleolítico ou início do mesolítico, em climas quentes e úmidos, e vêm se adaptando a seus hospedeiros, criando uma associação entre estes e os agentes infecciosos que veiculam. O registro mais antigo da presença do carrapato é de uma figura em uma tumba egípcia, datada de 1500 a.C., representada por um animal semelhante à hiena com três protuberâncias no pavilhão auricular interno, que se admitem serem carrapatos (ARTHUR, 1965).

Em sua *Historia Animalium*, em 355 a.C., Aristóteles, referiu-se aos carrapatos, acreditando que sua origem fosse o capim (ARTHUR, 1962). Chamado de *Croton*, na Antiga Grécia por ser parecido com a semente de mamona foi também denominado pela mesma razão de “*Ricinus*” na Antiga Roma. No ano 77, o carrapato foi citado como hematófago por Plínio em sua *História Natural*.

Mais recentemente o estudo do genoma de uma múmia de 5300 anos revelou a presença de material genético da bactéria *Borrelia burgdorferi*, causadora da borreliose “doença de Lyme”. Transmitida pela picada de carrapatos, a enfermidade, foi diagnosticada apenas no século 18. Provoca desde sintomas leves, como irritação cutânea, até mais graves, como distúrbios neurológicos, tornando-se, assim, este o registro mais antigo dessa doença (KELLER et al., 2012).

Atualmente são catalogadas 896 espécies de carrapatos no mundo, divididas em três famílias: Argasidae ou “carrapatos moles” (193 espécies); Ixodidae ou “carrapatos duros” (702 espécies) e, Nuttalliellidae, com somente uma espécie (GUGLIELMONE et al., 2010). A fauna brasileira ixodídica conhecida até o momento é composta de 61 espécies, distribuídas

em nove gêneros, sendo: 3 espécies de *Ornithodoros*, 3 de *Antricola*, 1 de *Argas*, 10 de *Carios*, 30 *Amblyomma*, 8 de *Ixodes*, 3 de *Haemaphysalis*, 2 de *Rhipicephalus* e 1 de *Dermacentor* (DANTAS-TORRES; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2009).

As espécies de carrapatos que parasitam animais domésticos são as mais estudadas sendo a sua biologia, capacidade vetorial e formas de controle, alvo de inúmeras pesquisas no Brasil (VERONEZ, 2009). As espécies que apresentam maior incidência são: *Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Argas miniatus* e *Ornithodoros brasiliensis*.

Rhipicephalus sanguineus no Brasil é a principal espécie de carrapato encontrada em cães em áreas urbanas (SZABÓ et al., 2001) e pode ser raramente visto parasitando outros hospedeiros. O carrapato *Amblyomma cajennense* pode ser também encontrado parasitando cães, nesse caso restrito à áreas rurais (LABRUNA; PEREIRA, 2001), porém esta espécie é mais comum em cavalos e capivaras (LABRUNA et al., 2000). Ambas as espécies de carrapatos representam grupos importantes para a saúde pública.

Argas miniatus é um carrapato que afeta as aves domésticas causando perdas de produtividade e podendo transmitir agentes patogênicos (LISBOA, 2006).

No Brasil, o prejuízo anual econômico na indústria de gado atribuído ao *Rhipicephalus microplus* foi estimado em 2 bilhões de dólares americanos (GRISI; MASSARD; MOYABORJA, 2002). A pecuária brasileira conta com cerca de 185,8 milhões de bovinos (ANUALPEC, 2012). O mercado de parasiticidas registra um valor em vendas estimado em 960 milhões de dólares, o que representa 34% do mercado brasileiro de produtos veterinários (SINDAN, 2010).

A principal forma de controle desses parasitas ainda é a utilização de produtos químicos e, de acordo com os critérios brasileiros do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) para o registro de novos produtos carrapaticidas, estes devem apresentar uma eficácia de no mínimo 95% (BRASIL, 1997). No entanto, a falta de um programa oficial de controle do carrapato permite que a maioria dos próprios produtores definam os critérios para o controle. A seleção de populações de carrapatos resistentes aos acaricidas continua a ser um importante motivador para o desenvolvimento de novos produtos antiparasitários (ANDREOTTI et al., 2011).

Vários estudos com extratos de plantas vêm sendo desenvolvidos com o propósito de identificar novas moléculas pesticidas. Visa-se, com isso, diminuir ou até mesmo substituir produtos sintéticos ineficazes, ou inadequados, atualmente em uso. Por exemplo, o óleo de nim (*Azadirachta indica*) extraídos de sementes, foi avaliado e demonstrou possuir algumas

propriedades acaricidas, tais como um efeito inibidor sobre a vitelogenina durante a ovogênese de artrópodes (WILLIAMS, 1993; KALAKUMAR et al., 2000).

Tagetes minuta é uma planta herbácea anual que pertence à família Asteraceae, de nome popular mais conhecido como “cravo-de-defunto” (PRAKASA RAO et al., 1999). Esta planta é utilizada na medicina popular e é encontrada crescendo em regiões temperadas da América do Sul (MOYO; MASIKA, 2009). Anteriormente, Moghaddam, Omidbiagi e Sefidkon (2007) mostraram que os principais componentes do óleo de *T. minuta* são α -terpineol, (Z)- β -ocimeno, dihydrotagetone, (E)-ocimenone, (Z)-tagetone e (Z)-ocimenone.

A composição do óleo essencial de *T. minuta* varia de acordo com as diferentes partes da planta e do seu estágio de crescimento/maturação, mas não diferem em relação à origem geográfica (CHAMORRO et al., 2008).

As quatro espécies de carrapatos analisadas neste estudo representam grupos importantes para os animais domésticos de companhia ou para produção de alimentos, sendo também de grande relevância para a saúde pública e meio ambiente.

O objetivo deste estudo foi caracterizar o óleo essencial de *T. minuta* e avaliar suas propriedades acaricidas em quatro espécies de carrapatos encontradas no Brasil.

REVISÃO DE LITERATURA

Espécies de carrapatos utilizados no estudo

1. *Rhipicephalus microplus*

É um carrapato monoxeno e tem os bovinos como principal hospedeiro podendo ser encontrado parasitando outros animais, domésticos ou não. Conhecido como carrapato-do-boi, e denominado de *Boophilus microplus*, foi recentemente, em consequência de análises filogenéticas, realocado por Murrell e Barker (2003) no gênero *Rhipicephalus* passando a se denominar *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Figuras 1A, 1B). O antigo gênero desta espécie foi mantido como subgênero facilitando a recuperação de publicações em que aparece com o antigo nome. Este carrapato causa grandes perdas na pecuária mundial, além de ser transmissor de diversos agentes patogênicos (GUGLIELMONE; BEATI; BARROS-BATTESTI, 2006).

A



B



Figura 1. A: macho de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vista dorsal - Imagem compõe acervo do Museu do carrapato, da Embrapa Gado de Corte; B: fêmeas ingurgitadas em bovino. Fotos: Jaqueline Matias.

1.1. Classificação

Segundo o *National Center for Biotechnology Information* (NCBI-ID: 6941), dos Estados Unidos da América, a classificação taxonômica do *R. microplus* é:

- Reino – Metazoa
- Filo – Arthropoda
- Classe – Arachnida

- Subclasse – Acari
- Superordem - Parasitiformes
- Ordem – Ixodida
- Superfamília – Ixodoidea
- Família – Ixodidae
- Subfamília – *Rhipicephalinae*
- Gênero – *Rhipicephalus*
- Subgênero – *Boophilus*
- Espécie – *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

1.2. Distribuição geográfica

Este carrapato é originário da Índia e da Ilha de Java, na Ásia. As expedições exploradoras, conforme registradas na história, incluíam o transporte de mercadorias e animais. Foi por meio da dispersão de animais domésticos que ocorreu a introdução deste parasita nas regiões tropicais e subtropicais: Austrália, México, América Central, América do Sul e África. Posteriormente, veio a estabelecer-se entre os paralelos 32° Norte e 32° Sul, com alguns focos no paralelo 35° Sul (NUÑES; MUÑOZ COBENAS; MOLTEDO, 1982).

O carrapato *R. microplus* foi relatado pela primeira vez parasitando bovinos em 1872, na Ilha de Darwin, tendo sido introduzido da Indonésia, espalhando-se, posteriormente por toda a Queensland até New South Wales em 1906, na Austrália (AGRICULTURE, 1976). Sua introdução no Brasil provavelmente ocorreu no início do século XVIII, sendo atualmente encontrado em todas as regiões, variando de intensidade de acordo com as condições climáticas e raças de bovinos (GONZALES, 1995).

1.3. Ciclo biológico

Trata-se de uma espécie monoxena, ou seja, que necessita de um único hospedeiro para completar seu ciclo de vida (ROCHA, 1984). Possui preferência pelos bovinos, com preferência para *Bos taurus* em relação a *B. indicus*, entretanto, ovelhas, cavalos, veados, cães, cabras, o homem e outros também podem ser hospedeiros, mas apenas em épocas de grande infestação nas pastagens (GONZALES, 1975).

A fase de vida parasitária começa com a fixação da larva no hospedeiro até o estágio de adulto ingurgitado (fêmea) que, ao se desprender do animal, inicia a fase de vida livre dando início à postura, incubação e posterior eclosão das larvas (Figura 2).

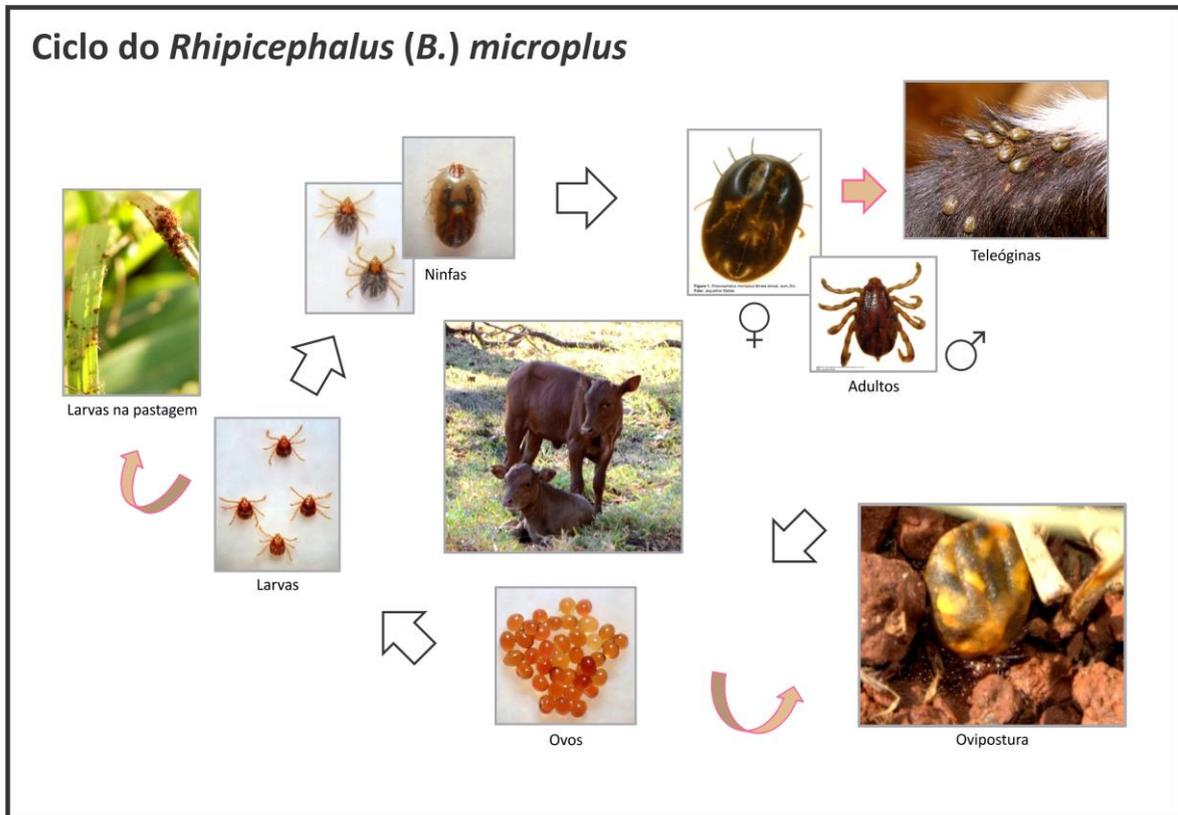


Figura 2. Ciclo biológico do carrapato-do-boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

1.4. Importância

É responsável por um prejuízo estimado em US\$ 2 bilhões/ano (GRISI; MASSARD; MOYA-BORJA, 2002), sendo que o rebanho bovino comercial do Brasil é o maior do mundo e determinante para a economia do país. Este ectoparasito causa reduções consideráveis na produção de leite, redução da natalidade, gastos elevados com carrapaticidas, perdas de peso, gastos com mão-de-obra e perda na qualidade do couro (INDICADORES, 2001; GOMES, 2000), além de intoxicação e morte de animais tratados com carrapaticidas, e predisposição a infecções bacterianas ou por miíases (HORN; ARTECHE, 1985).

Além disso, o *R. microplus* é um importante vetor de agentes patogênicos, muitas vezes letais, aos bovinos. Dentre os agentes destacam-se os da “Tristeza Parasitária Bovina - TPB” (GUGLIELMONE; BEATI; BARROS-BATTESTI, 2006). A TPB compreende duas

enfermidades bem conhecidas - a babesiose, determinadas pelos protozoários *Babesia bigemina* e *B. bovis*, e a anaplasmose, determinada por *Anaplasma marginale* (GUEDES JÚNIOR et al., 2008).

2. *Rhipicephalus sanguineus*

Vulgarmente conhecido como o carrapato vermelho do cão, *Rhipicephalus sanguineus* (Figura 3) é um carrapato trioxeno e que se alimenta principalmente em cães e acidentalmente em outros hospedeiros, incluindo os seres humanos (WALKER; KEIRANS; HORAK, 2005). É um importante transmissor de agentes patogênicos, sendo considerado o principal vetor da *Ehrlichia canis* no Brasil (BENENSON, 1992).

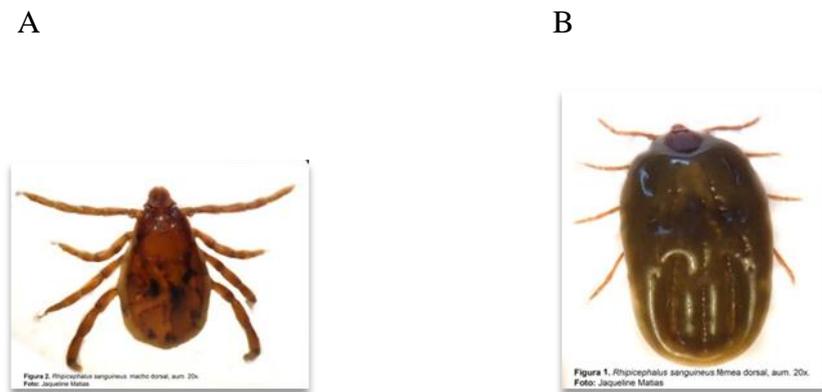


Figura 3. *Rhipicephalus sanguineus*. a: macho dorsal. b: fêmea dorsal ingurgitada. Foto: Jaqueline Matias. Imagem compõe acervo do Museu do carrapato, da Embrapa Gado de Corte (2012).

2.1. Classificação

Segundo o *National Center for Biotechnology Information* (NCBI-ID: 34632), dos Estados Unidos da América, a classificação taxonômica do *R. sanguineus* é:

- Reino – Metazoa
- Filo – Arthropoda
- Classe – Arachnida
- Subclasse – Acari
- Superordem - Parasitiformes
- Ordem – Ixodida

- Superfamília – Ixodoidea
- Família – Ixodidae
- Subfamília – *Rhipicephalinae*
- Gênero – *Rhipicephalus*
- Espécie – *Rhipicephalus sanguineus*

2.2. Distribuição geográfica

Originário do continente africano, onde existem aproximadamente 79 espécies do gênero *Rhipicephalus* incluindo cinco espécies que foram do gênero *Boophilus* e que estão agora no subgenero *Rhipicephalus (Boophilus)* (BOWMAN; NUTTALL, 2008), o carrapato *R. sanguineus*, também conhecido como “carrapato vermelho do cão”, é uma espécie cosmopolita e, provavelmente, a de maior distribuição geográfica (LABRUNA, 2004; WALKER; KEIRANS; HORAK, 2005).

2.3. Ciclo biológico

Possui ciclo trioxeno (Figura 4), ou seja, que necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo de vida. Os únicos hospedeiros primários conhecidos para os estágios parasitários do carrapato *R. sanguineus* são os cães, (SZABÓ et al., 1995). Há relatos de parasitismo em outras espécies de animais, incluindo alguns representantes da fauna silvestre brasileira, mas esse parasitismo acontece com pouca frequência e, quando ocorre, esse fato está estreitamente relacionado com o contato desses hospedeiros com o cão (LABRUNA; PEREIRA, 2001).

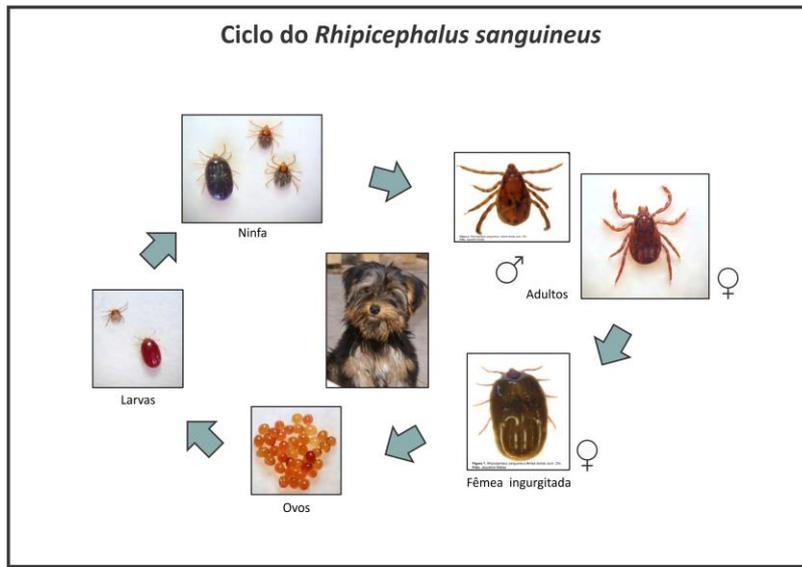


Figura 4. Ciclo biológico do *Rhipicephalus sanguineus*.

2.4. Importância

R. sanguineus pode transmitir patógenos como *Babesia canis*, para cães; *Rickettsia conorii*, para seres humanos (MAROLI et al., 1996) e *Ehrlichia canis*, para ambos, já que a Erliquiose Monocítica Canina (EMC) é considerada uma doença de importância zoonótica desde 1992 (BENENSON, 1992). Esse ectoparasito também serve de vetor para *Citiauxzoon felis*, responsável pela citauxzoonose em felinos (HOSKINS, 1991).

No continente americano o *R. sanguineus* está incriminado na transmissão de outras doenças, como a FMB, causada pela *Rickettsia rickettsii* e no Brasil é o principal transmissor de *Hepatozoon canis* (O'DWYER; MASSARD, 2001).

3. *Amblyomma cajennense*

Popularmente conhecido como carrapato-estrela ou carrapato-do-cavalo (Figura 5), possui um ciclo trioxeno e apresenta uma baixa especificidade parasitária, podendo ser visto parasitando várias espécies de animais domésticos e silvestres (LOPES et al., 1998).

3.1. Classificação

Segundo o *National Center for Biotechnology Information* (NCBI-ID: 34607), dos Estados Unidos da América, a classificação taxonômica do *A. cajennense* é:

- Reino – Metazoa
- Filo – Arthropoda
- Classe – Arachnida
- Subclasse – Acari
- Superordem - Parasitiformes
- Ordem – Ixodida
- Superfamília – Ixodoidea
- Família – Ixodidae
- Subfamília – *Amblyomminae*
- Gênero – *Amblyomma*
- Espécie – *Amblyomma cajennense*

A



B



Figura 5: *Amblyomma cajennense*. A: fêmea em vista dorsal. B: macho dorsal. Foto: Jaqueline Matias. Imagem compõe acervo do Museu do carrapato, da Embrapa Gado de Corte (2012).

3.2. Distribuição

Primeiramente relatado em Cayenna (Guiana Francesa) e descrito por Fabricius em 1787 (OLIVER, 1989) é um carrapato amplamente distribuído na região neotropical, desde o sul dos Estados Unidos até norte da Argentina, incluindo as Ilhas do Caribe (ARAGÃO, 1936; WALKER; OLWAGE, 1987). Estudos em andamento especulam a existência de pelo menos seis prováveis subespecies de *Amblyomma cajennense*.

3.3. Ciclo Biológico

Possui um ciclo trioxeno, ou seja, necessita três de hospedeiros (Figura 6) e acredita-se que na América do Sul, antas (*Tapirus terrestris* L.) e capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris* Erxleb.) são os principais hospedeiros primários para *A. cajennense* (LABRUNA et al., 2001). Após a introdução de cavalos na América Latina durante a colonização européia, *A. cajennense* se tornou uma praga séria a estes animais, que também atuam como hospedeiros primários para todos os estágios do ectoparasita (LABRUNA et al., 2002).

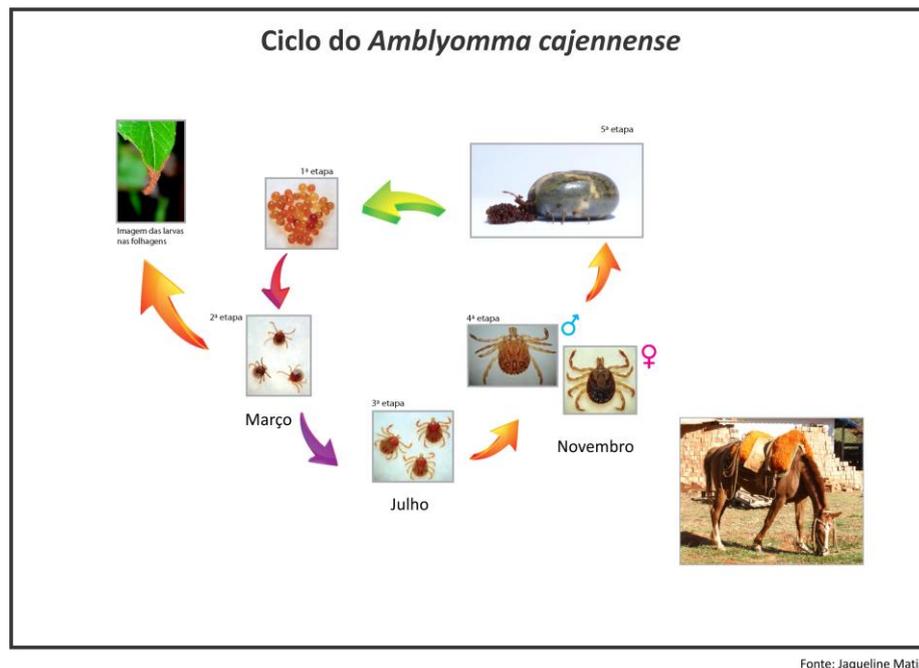


Figura 6. Ciclo do *Amblyomma cajennense*.

3.4. Importância

Este carrapato ocasiona importantes perdas econômicas, em consequência da queda de produtividade dos animais e dos gastos com o uso de carrapaticidas (PRATA; ALONSO; SANAVRIA, 1996). É a principal espécie que parasita os seres humanos na América Central e no Brasil (ARAGÃO, 1936; LABRUNA et al., 2001), sendo o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, o agente causador da FMB em humanos (DIAS; MARTINS; RIBEIRO, 1937; LEMOS, 1997). *A. cajennense* foi também demonstrado ser um vetor competente do vírus venezuelano de encefalomyelite equina em condições laboratoriais (LINTHICUM et al., 1991).

4. *Argas miniatus*

Argas miniatus Kock (1844) (Figura 7) é a única espécie do gênero que ocorre no Brasil, e tem como hospedeiro as aves domésticas. Na natureza é encontrado em pequenas criações de *Gallus gallus* provocando perdas na produtividade (MARCHOUX; SALIMBENI, 1903).

A



B



Figura 7. *Argas miniatus*: A – macho em vista dorsal, B - fêmeas parasitando uma ave. Foto: Jaqueline Matias. Imagens do acervo do Museu do carrapato, da Embrapa Gado de Corte (2012).

4.1. Classificação

Segundo Flechtmann (1985), a classificação taxonômica do *A. miniatus* é:

- Reino – Metazoa
- Filo – Arthropoda
- Classe – Arachnida
- Subclasse – Acari
- Superordem - Parasitiformes
- Ordem – Ixodida
- Superfamília – Ixodoidea
- Família – Argasidae
- Gênero – *Argas*
- Subgênero – *Persicargas*
- Espécie – *Argas miniatus*

4.2. Distribuição geográfica

Todas as espécies do gênero *Argas* Latreille, 1796 são consideradas hematófagas nos estágios de larva, ninfa e adulto, parasitando aves domésticas e silvestres. É encontrada na América do Norte, Central e principalmente na América do Sul, sendo *A. (Persicargas) miniatus*, portanto, de distribuição neotropical. Nessa região existem pelo menos 10 espécies classificadas no gênero *Argas*, sendo destas, sete pertencentes ao subgênero *Argas* e três ao subgênero *Persicargas* (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006).

4.3. Ciclo Biológico

É um carrapato heteroxeno, ou seja, necessita de mais de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida, no presente caso utiliza-se de dois, e cujo ciclo de vida, em condições de temperatura e umidade relativa controladas pode durar até 201 dias, enquanto, que em condições naturais pode chegar até 317 dias (SCHUMAKER; OBA, 1988). Possui hábito de repasto noturno e durante este processo a larva permanece parasitando o hospedeiro durante dias, enquanto que ninfas e adultos realizam seus repastos sanguíneos em poucos minutos. Estes carrapatos, durante a fase de vida livre, são encontrados em abrigos e ninhos de seus hospedeiros, locais nos quais ocorrem a muda e a cópula (ROHR, 1909).

4.4. Importância

Encontrado principalmente em criações domésticas de *Gallus gallus*, esse argasídeo tem importância econômica para as aves nas Américas, acarretando prejuízos tais como perdas na produtividade, anemia, espoliação, transmissão de patógenos. Entre os patógenos transmitidos destaca-se a *Borrelia anserina* (MARCHOUX; SALIMBENI, 1903). As larvas, em consequência do seu hematofagismo, podem causar paralisia induzida em aves jovens, que é conhecida como “Tick Paralysis” (MAGALHÃES; MASSARD; SERRA-FREIRE, 1987). Esta doença é causada por uma neurotoxina liberada ao final do ingurgitamento, provocando paralisia flácida ascendente, levando rapidamente a morte geralmente por parada respiratória; sete espécies do gênero *Argas* podem produzir esta toxina (MANS; GOTHE; NEITZ, 2004).

5. Tipos de Controle

Para evitar prejuízos em decorrência da ação espoliatória dos carrapatos existem alguns métodos que procuram minimizar esse problema, tais como: o uso de produtos químicos (carrapaticidas), vacinas, fitoterápico, seleção genética e a preservação e/ou utilização de inimigos naturais (controle biológico). Esses métodos tornam-se ainda mais eficazes quando empregadas na forma de “Manejo Integrado” e/ou “Estratégico”.

5.1. Produtos Químicos Convencionais

O uso de carrapaticidas é ainda a principal forma de controle de *R. microplus* embora apresente casos de resistência aos arsenicais relatados desde 1936 (WHARTON, 1983), clorados a partir de 1953 (FREIRE, 1953), bem como, recentemente, às demais classes químicas (PRUETT, 1999; BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; MATIAS et al., 2011) e, na maioria das vezes, é a única opção adotada pelo proprietário, seja de animais de companhia ou de produção.

A constante exposição dos carrapatos aos carrapaticidas, associada com a falta de um manejo adequado, acelera a pressão de seleção de indivíduos resistentes na população, tornando inevitável o agravamento do problema de resistência, conforme já vem sendo diagnosticado por diversos autores e em vários locais do mundo (FREIRE, 1953; CRAMPTON; BAXTER; BARKER, 1999 a, b).

Apesar de o controle químico ser ainda o método mais utilizado atualmente, outros problemas relacionados com o uso sistemático de pesticidas não podem ser esquecidos, tais como: resíduos químicos nos produtos de origem animal (principalmente leite, carne e seus derivados) e no ambiente, provenientes do seu uso indiscriminado (BULLMAN; MUÑOS CABENAS; AMBRÚSTOLO, 1996).

Os produtos de controle são classificados em grupos químicos que podem ser, também, divididos segundo a forma de atuação.

- a. De contato: Aplicados por meio de pulverização, imersão ou *pour on*.
- b. Sistêmicos: São aplicados por meio de injeções ou *pour on* na linha dorsal. O princípio ativo do produto é metabolizado pelo organismo e distribuído por todo o corpo do animal por meio da circulação sanguínea.

5.2. Controle biológico

Denomina-se de controle biológico natural à regulação espontânea, por organismos vivos (antagonistas) da população de outras espécies de animais, sem a necessidade de intervenção humana (GRONVOLD, 1996). A identificação de agentes de controle biológico, os chamados inimigos naturais, permite que o homem manipule estes organismos produzindo-os em condições controladas para posterior liberação nas áreas de interesse.

Essa forma de controle biológico inclui os controles: artificial, clássico e aplicado (PARRA et al., 2002). Embora o uso de carrapaticidas ainda seja a principal ferramenta de controle destes parasitas, atualmente o controle biológico está se tornando uma alternativa promissora com uma abordagem atraente da relação custo/benefício, encontrando-se entre as opções o uso de agentes microbianos como fungos (GARCIA et al., 2011) e a ação de predadores naturais, tais como, a garça vaqueira *Egretta ibis* que, apesar de preferir insetos, também se alimenta de carrapatos (ALVES-BRANCO; ECHEVARRIA; SIQUEIRA, 1983) e formigas (GONZALES, 1995).

Há ainda outros métodos de controle cultural e/ou mecânicos, que incluem manejo do rebanho (WHARTON; NORRIS, 1980), rotação de pastagens (ELDER et al., 1980), seleção de raças menos sensíveis ao carrapato e cultivo de forrageiras capazes de repelir ou causar a morte de carrapatos (SUTHERST; JONES; SCHNITZERLING, 1982; FARIAS; GONZALES; SAIBRO, 1986).

Tem merecido destaque o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* que vem sendo amplamente estudado em ensaios *in vitro* e comprovando sua eficiência no controle de várias espécies de carrapato como *Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *Anocentor nitens*, *Amblyomma variegatum*, *A. cajennense* (KAAYA; MWANGI; OUNA, 1996; MONTEIRO; FIORIN; CORREIA, 1998; BITTENCOURT et al., 1999; BITTENCOURT, 2000; PAIÃO; MONTEIRO; KRONKA, 2001; GARCIA; MONTEIRO; SZABÓ, 2004; GARCIA et al., 2011; LOPES et al., 2007).

5.3. Vacina

Nas últimas décadas, os estudos envolvendo o desenvolvimento de vacinas para controlar os carrapatos vêm sendo intensificados por existir uma necessidade de substituir os produtos químicos. Estes, conforme já mencionado, causam, entre outros, transtornos à saúde pública e ao meio ambiente com seus resíduos.

Atualmente existem vacinas disponíveis para importação somente para *R. microplus* e foram desenvolvidas a partir de uma proteína denominada Bm86, que confere proteção parcial

aos bovinos contra futuras infestações, diminuindo o número de carrapatos, produção de ovos e a fertilidade (RODRÍGUEZ et al., 1995).

A proteína Bm86 é um "antígeno oculto" obtida do intestino dos carrapatos e que foi desenvolvido por Willadsen e Kemp (1988) e constitui a base de duas vacinas comerciais lançadas no mercado: a vacina TickGard, desenvolvida na Austrália (WILLADSEN et al., 1995) e a vacina Gavac, desenvolvida em Cuba (De La FUENTE et al., 1998). Embora seja uma importante alternativa de controle, o seu grau de proteção ainda não é o suficiente para substituir o uso de acaricidas (WILLADSEN et al., 1996; JONSSON et al., 2000).

Por isso, novos antígenos vêm sendo estudados como, por exemplo, os inibidores de tripsina (BmTIs), que foram detectados nas diferentes fases de desenvolvimento do *R. microplus* e em diferentes concentrações, tendo sua atividade inibitória para tripsina comprovada a partir de purificados de larvas, que foram usados como antígeno para imunização de bovinos (ANDREOTTI et al., 2002).

5.4. Fitoterápicos

A utilização de plantas no tratamento de várias doenças, mesmo antes de se conhecerem suas causas, é conhecida desde a antiguidade. Estudos arqueológicos têm apresentado através da análise de pólenes e outros materiais, que os homens, na antiguidade, já usavam plantas medicinais. Os primeiros relatos do uso de plantas na medicina foram feitos nos papiros egípcios que registraram o uso de quinhentas plantas medicinais, dentre as quais se destacam: Menta, Alecrim, Camomila, Absinto, Babosa, Terebentina, Tomilho e plantas da família Solanaceae usadas até hoje (BARATA, 2005). O mesmo autor refere-se, também, aos escritos chineses sobre a utilização de folhas de bambu, e demais usos de plantas medicinais referidos em tábuas de argila dos Sumérios.

Os primeiros europeus que chegaram ao Brasil se depararam com uma grande quantidade de plantas medicinais. O conhecimento sobre as ervas locais usadas pelas tribos era transmitido e aprimorado de geração em geração por intermédio dos pajés. Tais conhecimentos foram adquiridos pelos europeus e, juntamente com a necessidade de viver com o que a natureza oferecia, resultou por ampliar o contato com a flora medicinal brasileira (LORENZI; MATOS, 2002).

O Brasil possui uma ampla biodiversidade vegetal que chega a aproximadamente 55.000 espécies catalogadas, porém, apenas 1% dessas plantas foi estudada química e/ou farmacologicamente. As plantas medicinais são consumidas em todas as classes sociais e

constituem um mercado nacional que movimenta US\$ 400 milhões. Além disso, são recomendadas pela Organização das Nações Unidas – ONU, que reconhece que 2/3 da população da Terra utiliza plantas medicinais. Apesar de serem, muitas vezes, rejeitadas por médicos, existem pelo menos trezentas plantas medicinais que fazem parte do arsenal terapêutico popular brasileiro (BARATA, 2005).

Os produtos vegetais estão representados por centenas de princípios ativos que pertencem às seguintes cinco classes químicas: carboidratos, lipídios, compostos nitrogenados (aminoácidos, peptídios, proteínas, 17 glicosídeos cianogênicos e alcalóides), terpenóides e os fenilpropanóides. Muitos desses compostos apresentam uma atividade biológica, como por exemplo, ações tranquilizantes, analgésicas, antiinflamatórias, citotóxicas, anticoncepcionais, antimicrobianas, antivirais, fungicidas, inseticidas, etc (DI STASI, 2002). Estes produtos são utilizados para as mais diversas finalidades, tanto na terapêutica clínica, como na indústria de cosméticos e de alimentos (CARVALHO et al., 2007).

Vários estudos com extratos de plantas vêm sendo desenvolvidos como um método alternativo para diminuir ou até mesmo substituir o uso de produtos sintéticos. Atualmente, *R. microplus* e outras espécies de carrapatos têm sido alvo desses estudos devido ao desenvolvimento e seleção de cepas cada vez mais resistentes a vários grupos químicos empregados em diferentes partes do mundo (FAO, 2004).

Os fitoterápicos possuem algumas vantagens sobre os sintéticos como, por exemplo, desenvolvimento mais lento da resistência em consequência do envolvimento de diferentes princípios ativos com diferentes mecanismos de ação (BALANDRIN et al., 1985; CHAGAS et al., 2003; OLIVO et al., 2009).

Atualmente, já foram avaliados contra *R. microplus* cerca de 55 espécies de plantas pertencentes a 26 famílias, mas apenas alguns princípios ativos foram identificados e comprovados com função acaricida (BORGES; SOUSA; BARBOSA, 2011). O principal desafio para o desenvolvimento de acaricidas alternativos está na dificuldade de transposição da eficácia obtida *in vitro* para o campo, e isso, se deve em parte pela dificuldade em se estabilizar os diversos compostos químicos presentes no extrato (EVANS, 1996) e, também, pelo fato da alta volatilidade de produtos naturais, que apresentam baixa persistência no meio ambiente (MULLA; SU, 1999).

Substâncias biocidas presentes em *Azadirachta indica* vêm sendo investigadas contra várias espécies de carrapatos, conforme descrito por vários autores com diferentes metodologias, e vem apresentando resultados variados, principalmente, no controle do *R. microplus* (WILLIAMS, 1993; VALENTE; BARRANCO; SELLAIVE-VILLAROEL, 2007;

SRIVASTAVA et al., 2008; COSTA et al., 2008; MAGADUM; MONDAL; GHOSH, 2009; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2010).

6. *Tagetes minuta*

Tagetes é um gênero de erva e arbustos que engloba algumas espécies da família das compostas, nativo da América Central e Sul, sendo naturalizado em outras regiões nos trópicos e subtropicais. É popularmente conhecida por cravo e algumas espécies são cultivadas como plantas ornamentais, tais como: *T. erecta*, *T. tenuifolia* e *T. patula*. Porém, *T. minuta* Linnaeus pode ser encontrada crescendo em condições naturais e, em alguns países, tornou-se uma planta nociva, como por exemplo, na Austrália e África do Sul (MAROTTI et al., 2004).

Recentemente, muitas espécies desse gênero têm sido investigadas como possíveis fontes de diferentes atividades biológicas, as quais podem ser utilizadas na indústria e na medicina. Isso se deve à presença de metabolitos secundários, que originam compostos que não estão distribuídos em todas as partes das plantas e nem são, na verdade, estritamente necessários, mas desempenham um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. Os terpenos (ácido mevalônico ou do piruvato e 3-fosfoglicerato); compostos fenólicos (derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico) e alcaloides (derivados de aminoácidos aromáticos) constituem os três grandes grupos de metabólitos secundários (GARCÍA e CARRIL, 2009).

Muitos dos compostos que se formam nas folhas, flores ou frutos, e que são acumulados em órgãos específicos da planta na forma de óleos essenciais, apresentam propriedades inseticidas e antimicrobianas (GREEN et al., 1993; PICCAGLIA et al., 1997). Os flavonóides apresentam propriedades antioxidantes (BORS; SARAN, 1987). Os carotenóides e, principalmente, os ésteres de luteína, que são encontrados apenas em pétalas de flores, são utilizados em preparações farmacológicas (RIVAS, 1989; GAU; PLOSCHKE; WUNSCH, 1983); como aditivos e corantes alimentares (TIMBERLAKE; HENRY, 1986) e, também, são conhecidos pelos seus efeitos anticancerígenos (BLOCK; PATTERSON; SUBAR, 1992).

Introduzida no Brasil há muitos anos, *T. minuta* aclimatou-se perfeitamente, tornando-se até subspontânea (MOREIRA, 1996). Segundo Kissmann e Groth (1992), *T. minuta* possui a seguinte classificação:

- Família Compositae ou Asteraceae

- Subfamília Asteroideae
- Tribo Helenieae
- Gênero *Tagetes*
- Espécie *Tagetes minuta* Linnaeus

É popularmente denominada vara-de-rojão, rabo-de-foguete, cravo-de-defunto, cravo-de-urubu, chinchilho, coari, coari-bravo e estrondo. Seu óleo essencial é utilizado na medicina popular como anti-helmíntico. *T. minuta* é uma planta que se reproduz por semente, com germinação na primavera e verão; na Região Sul do Brasil apresenta ciclo de 120-150 dias até a formação de sementes. *T. minuta* recebeu este nome em referência ao tamanho das flores e não da planta, que pode alcançar até 2 metros de altura. Ocorre em terrenos secos e desenvolve-se melhor naqueles cultivados, de boa fertilidade e em áreas onde se efetuaram queimadas (KISSMANN; GROTH, 1992).

T. minuta, de acordo com Craveiro et al. (1988), é uma planta muito comum em todo Brasil. Esta espécie é alvo de pesquisas que tem demonstrado resultados promissores, sendo eficaz contra agentes microbianos, como fungos (BII; SIBOE; MIBEY, 2000), vírus (ABAD et al., 1999) e bactérias (TERESCHUK; BAIGORI; ABDALA, 2003).

Uma análise do óleo essencial das flores de *Tagetes minuta* L. do noroeste do Himalaia resultou na determinação e caracterização dos seguintes componentes: (2)-b-ocimene (39,44%), dihidrotagetone (15,43%), (2)-tagetone (8,78%), (E)-ocimenone (14,83%) e (Z)-ocimenone (9,15%), além de relatarem uma atividade larvicida do ocimenone contra mosquitos (SINGH, B.; SOOD; SINGH, V. 1992).

REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J. et al. Antiviral activity of some South american medicinal plants. *Phytotherapy Research*, London, v. 13, n. 2, p. 142-146, mar. 1999.
- AGRICULTURE Handbook – *Animal and plant health inspection*. United States Department of agriculture, 1976. 133 p.
- ALVES-BRANCO, F. P.; ECHEVARRIA, F. A. M.; SIQUEIRA, A. S. *Garça vaqueira Egretta ibis e o controle biológico do carrapato Boophilus microplus*. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 1983. 4p. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico, 1).
- ANDREOTTI, R. et al. BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick. *International Immunopharmacology*, v. 2, n. 4, p. 557-563, mar. 2002.
- ANDREOTTI, R. et al. Acaricide resistance of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 20, n. 2, p. 127-133, abr/jun. 2011.
- ANUALPEC - *Anuário da Pecuária Brasileira*. São Paulo: Instituto FNP, 2012. 05 p.
- ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 759-843, 1936.
- ARTHUR, D. R. *Ticks and diseases*. London: Pergamom Press. 1962. p. 1-445.
- ARTHUR, D. R. Feeding in ectoparasitic acari with special reference to tick. *Advances in Parasitology*, v. 3, p. 249-98, 1965.
- BALANDRIN, M. F. et al. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, v. 228, n. 4704, p. 1154-1160, jun. 1985.
- BARATA, L. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 4-5, out/dez. 2005.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. *Carrapatos de importância medicoveterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo: Vox : ICTTD-3 : Butantan, 2006. 223 p.
- BENENSON, A. S. Ehrlichiosis. In: *El control de las enfermedades transmisibles en el hombre*. 15 ed. Washington D.C: Organizacion Mundial de Salud, p. 115-117, 1992.
- BII, C. C.; SIBOE, G. M.; MIBEY, R. K. Plant essential oils with promising antifungal activity. *East African Medical Journal*, v. 77, n. 6, p. 319-322, jun. 2000.
- BITTENCOURT, V. R. E. P. et al. Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 em teste de campo com bovinos infestados por carrapato *Boophilus*

microplus (Canestrini, 1883) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 2, p. 78-82, 1999.

BITTENCOURT, V. R. E. P. Controle Biológico. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. *Controle biológico de carrapatos*. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2000, cap. 4, p. 145-175.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetable, and cancer prevention - a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, v. 18, n. 1, p. 1-29, 1992.

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; BARBOSA, C. S. Perspectivas para o uso de extratos de plantas para o controle do carrapato de bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 20, n. 2, p. 89-96, abr/jun. 2011.

BORS, W.; SARAN, M. Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radical Research Communications*, v. 2, n. 4-6, p. 289-294, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 48 de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. *Diário Oficial da União [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 16 maio 1997. Seção 1. p. 10165. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=2118>>. Online. Acesso em: 21 dez. 2012.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F. et al. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 44-48, out/dez. 2009.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F. et al. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 46-50, jan/mar. 2010.

BULLMAN, G. M.; MUÑOS CABENAS, M. E.; AMBRÚSTOLO, R. R. El impacto ecológico de las lactonas macrocíclicas (endectocidas): una actualización comprensiva y comparativa. *Veterinaria Argentina*, Buenos Aires, v. 8, n. 127, p. 3-15, 1996.

CARVALHO, A. C. B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. *T&C Amazônia*, v. 5, n. 11, p. 26-32, jun. 2007.

CHAGAS, A. C. S. et al. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 109-114, fev. 2003.

CHAMORRO, E. R. et al. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* leaves and flowers. *Journal of the Argentine Chemical Society*, v. 96, n. 1-2, p. 80-86, ago/dez. 2008.

COSTA, F. B. et al. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 17, supl. 1, p. 83-86, set. 2008.

- CRAMPTON, A. L.; BAXTER, C. D.; BARKER, S. C. A new family of cytochrome P450 genes (CYP41) from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 29, n. 9, p. 829-834, Set. 1999a.
- CRAMPTON, A. L.; BAXTER, G. D.; BARKER, S. C. Identification and characterization of a cytochrome P450 gene and processed pseudogene from an arachnid: the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 29, n. 4, 377-384, abr. 1999b.
- CRAVEIRO, C. C. et al. Essential oils of *Tagetes minuta* from Brazil. *Perfume and Flavors*, v. 13, n. 5, p. 35-36, 1988.
- DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. *Systematic & Applied Acarology Society*, v. 14, p. 30-46, 2009.
- DE LA FUENTE, J. et al. Field studies and cost-effectiveness of vaccination with GAVACTM, against the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vaccine*, v. 16, n. 4, p. 366-73, fev. 1998.
- DIAS, E.; MARTINS, A. V.; RIBEIRO, D. J. Typho exanthematico no Oeste de Minas Gerais. Reacções de Weil-Felix comunicantes e de cães. *Brasil Médico*, n. 24, p. 652-655, 1937.
- DI STASI, L. C. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. eds. SOUZA-BRITO, A. R. M.; MARIOT, A.; SANTOS, C. M. col. - 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: Editora UNESP, 2002.
- ELDER, J. K. et al. A survey concerning cattle tick control in Queensland. 3. Chemical control. *Austalian Veterinary Journal*, v. 56, n. 5, p. 212-218, maio. 1980.
- GOMES, A. *Carrapato-de-boi: prejuízos e controle*. Embrapa Gado de Corte: Campo Grande, 5p. 2000. Gado de Corte Divulga, 42. Disponível: <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/divulga/divulga_pdf/gdcd42PeB.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2012.
- ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen ransmission. *Experimental and Applied Acarology*, v. 23, n. 9, p. 685-715, set. 1999.
- EVANS, W. C. The plant and animal kingdoms as sources of drugs. In: SAUNDERS, W. B. *Trease and Evans Pharmacognosy*. London, p. 15-17, 1996.
- FACCINI, J. L. H.; BARROS-BATTESTI, D. M. Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. *Carrapatos de importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo, Vox/CTTD-3/Butantan, p. 5-10, 2006.

FARIAS, N. A. R.; GONZALES, J. C.; SAIBRO, J. C. Antibiose e antixenose entre forrageiras em larvas de carrapato-de-boi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 21, n. 12, p. 1313-1320, dez.1986.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Module 1. Ticks: acaricide resistance: diagnosis management and prevention. In: *Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants*. Rome: FAO Animal Production and Health Division, 2004.

FLECHTMANN, C. H. W. *Ácaros de importância médico-veterinária*. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1985. 192 p.

FREIRE, J. J. Arseno e cloro resistência e emprego de tiofosfato de dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Boletim da diretoria de produção animal*, Porto Alegre, v. 9, n. 17, p. 3-21, 1953.

FREIRE, J. J. Revisão das espécies da família Ixodidae. *Revista de Medicina Veterinária*, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 1-16, 1972.

BOWMAN, A. S.; NUTTALL, P. A. Ticks: biology, disease and control. 1ª ed. New York: Cambridge, 2008. 23p.

FREITAS, M. G. et al. *Entomologia e acarologia médica e veterinária*. 4ª. ed. Belo Horizonte: Rabelo e Brasil, 1978. 253 p.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1513-1518, set/out. 2004.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. PÉREZ-URRIA. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. *Serie Fisiología Vegetal*, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GARCIA, M. V. et al. Effect of *Metarhizium anisopliae* fungus on off-host *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from tick-infested pasture under cattle grazing in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 1, n. 3, p. 10-16, set. 2011.

GAU, W.; PLOSCHKE, H. J.; WUNSCHKE, C. Mass spectrometry identification of xanthophyll fatty acid esters from marigold flowers (*Tagetes erecta*) obtained by high performance liquid chromatography and Craig counter current distribution. *Journal of Chromatography*, v. 262, n. 1, p. 277-284, jun.1983.

GONZALES, J. C. *O controle dos carrapatos dos bovinos*. Porto Alegre: Sulina, 1975. 104 p.

GONZALES, J. C. *O controle do carrapato do boi*. 2. ed. Porto Alegre: Edição do Autor, 1995. 235 p.

GREEN, M. M. et al. Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypti*. *Journal off the American Mosquito Control Association*, United States, v. 7, n. 2, p. 282-286, jun. 1993.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E. 2002. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, v. 125, n. 21, p. 8-10, jan/fev. 2002.

GRONVOLD, J. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *Journal of Helminthology*, London, v. 70, n. 4, p. 291-297, dez. 1996.

GUEDES JÚNIOR, D. S. et al. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the northeastern region of the state of Pará, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 17, n. 2, p. 105-109, abr/jun. 2008.

GUGLIELMONE, A. A. et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Experimental and Applied Acarology*, v. 40, n. 2, p. 83-100, out. 2006.

GUGLIELMONE, A. A. et al. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, n. 2528, p. 1-28, jul. 2010.

HORN, S. C.; ARTECHE, C. C. P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, v.4, p.12-32, jan/fev. 1985.

HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs: diagnosis and treatment. *Canine Practice*, v. 16, n. 3, p. 13-21, maio/jun. 1991.

INDICADORES Rurais. Brasília: CNA, v. 5, n. 29, 2001. 6p.

JONGEJAN, G.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. *Parasitology*, v. 129, n. (suplemento), p. 3-14, 2004.

JONSSON, N. N. et al. Evaluation of tickGARD(PLUS), a novel vaccine against *Boophilus microplus*, in lactating Holstein-Friesian cows. *Veterinary Parasitology*, v. 88, n. 3-4, p. 75-85, mar. 2000.

KAAYA, G. P.; MWANGI, E. N.; OUNA, E. A. Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum* using the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, San Diego, v. 67, n. 1, p. 15-20, jan. 1996.

KALAKUMAR, B. et al. Evaluation of custard seed oil and nim oil as acaricides. *Journal of Veterinary Parasitology*, v. 14, n. 2, p. 171- 172, 2000.

KELLER, A. et al. New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. *Nature Communications*, v. 3, n. 698, fev. 2012.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. *Plantas infestantes e nocivas*. Ludwigshaven : BASF, v. 2, p. 355-356, 1992.

LABRUNA M. B. Carta Acarológica. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Ouro Preto, v. 23, suplemento. 1, p. 199-202, 2004.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA M. C. Carrapato em cães no Brasil. *Clínica Veterinária*, v. 30, n. 1, p. 24-32, jan/fev. 2001.

LABRUNA, M. B. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Urará Eastern Amazon, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, n. 37, n. 5, p. 774-779, set. 2000.

LABRUNA, M. B. et al. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 97, n. 1, p. 1-14, maio. 2001.

LABRUNA, M. B. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 8, p. 1133-1136, dez. 2002.

LEMOS, E. R. S. Febre maculosa brasileira em uma área endêmica no município de Pedreira, São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, n. 3, p. 261, maio/jun.1997.

LINTHICUM, K. J. et al. Venezuelan Equine *Encephalomyelitis* virus infection and transmission by the tick *Amblyomma cajennense* (Arachnida: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 28, n. 3, p. 405-409, maio. 1991.

LISBOA, R. S. *Estudo da transmissão experimental de Borrelia anserina (Sakharoff, 1891) por Argas (Persicargas) miniatus Kock, 1844 e avaliação comparativa de parâmetros clínicos e hematológicos em Gallus gallus Linnaeus, 1758.* 2006. 63f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

LOPES, C. M. et al. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 347- 351, maio/jun. 1998.

LOPES, R. B. et al. Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 27-31, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.* Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.

MAGADUM, S.; MONDAL, D. B.; GHOSH, S. Comparative efficacy of *Annona squamosa* and *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus* Izatnagar isolate. *Parasitology Research*, v. 105, n. 4, p. 1085-1091, out. 2009.

MAGALHÃES, F. E. P.; MASSARD, C. L.; SERRA-FREIRE, N. M. Paralysis in *Gallus gallus* and *Carina moschata* induced by larvae of *Argas (Persicargas) miniatus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 7. n. 2, p. 47-49, 1987.

MANS, B. J.; GOTHE, R.; NEITZ, A. W. Biochemical perspectives on paralysis and other forms of toxicoses caused by ticks. *Parasitology*, London, v. 129, n. (suplemento), p. 95-111, 2004.

MARCHOUX, E. ; SALIMBENI, A. La spirillose des poules. *Annales de Institut Pasteur Lille*, Paris, v. 17, n. 1, p. 569-580, 1903.

MAROLI, M. et al. Diffusione della zeca del cane (*Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806) in Italia: un problema di salute pubblica. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, v. 32, n. 3, p. 387-397, 1996.

MAROTTI, M. et al. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *Journal of Essential Oil Research*, v. 16, n. 5, p. 440-444, set/out. 2004.

MATIAS, J. et al. *Relação entre a comercialização e a eficiência de acaricidas no estado de Mato Grosso do Sul*. Embrapa Gado de Corte, 2011. 30p. (Embrapa Gado de Corte, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 28). Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/bp/BP28.pdf>> Acessado em 20/08/2012.

MOGHADDAM, M.; OMIDBIAGI, R.; SEFIDKON, F. Chemical composition of the essential oil of *Tagetes minuta* L. *Journal of Essential Oil Research*, v. 19, n. 1, p. 3-4, 2007.

MONTEIRO, A. C.; FIORIN, A. C.; CORREIA, A. C. B. Pathogenicity of isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin towards the cattle tick *Boophilus microplus* (can.) (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Revista de Microbiologia*, v. 29, n. 2, p. 109-112, 1998.

MOREIRA, F. *Plantas que curam: cuide da sua saúde através da natureza*. 5.ed. São Paulo : Hemus, 1996. 256p.

MOYO, B.; MASIKA, P. J. Tick control methods used by resource-limited farmers and the effect of ticks in cattle in rural areas of the Eastern Cape Province, South Africa. *Tropical Animal Health and Production*, v. 41, n. 4, p. 517-523, abr. 2009.

MULLA, M. S.; SU, T. Activity and biological effects of nim products against arthropods of medical and veterinary importance. *Journal of American Mosquito Control Association*, v. 15, n. 2, p. 133-152, jun. 1999.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Systematic Parasitology*, v. 56, n. 1, p. 169-172, nov. 2003.

NUÑES, J. L.; MUÑOZ COBENAS, M. E.; MOLTEDO, H. L. *Boophilus microplus*, la garrapata comun del ganado vacuno. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1982. 19 p.

O'DWYER, L. H. O.; MASSARD, C. L. Aspectos gerais da hepatozoonose canina. *Clínica Veterinária*, v. 6, n. 31, p. 34-39, 2001.

OGRZEWALSKA, M. et al. Tickes (Acari: Ixodidae) infesting birds in an Atlantic rain forest region of Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 46, n. 5, p. 1225-1229, set. 2009.

OLIVER, J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodidae). *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 20, n. 1, p. 397-430, nov. 1989.

OLIVO, C. J. et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1131-1135, jul. 2009.

PAIÃO, J. C. V.; MONTEIRO, A. C.; KRONKA, S. N. Susceptibility of the cattle tick of the *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to isolates of the fungus *Beauveria bassiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 17, n. 3, p. 245-251, abr. 2001.

PARRA, J. R. P. et al. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Eds.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. São Paulo: Manole, p.1-13, 2002.

PICCAGLIA, R. et al. *Chemical composition and antimicrobial activity of Tagetes erecta and Tagetes patula*, in *Essential Oils: Basic and Applied Research*. FRANZ, C.; MÁTHÉ, Á.; BUCHBAUER, G. eds. Allured Publishing, Carol Stream, p. 49–51, 1997.

PRAKASA RAO, E. V. S. et al. Agronomical and Chemical studies on *Tagetes minuta* grown in a red soil of a semiarid tropical region in India. *Journal of Essential Oil Reserch*, v. 11, n. 2, p. 259-261, 1999.

PRATA, M. C. A.; ALONSO, L. S.; SANAVRIA, A. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 3, n. 2, p. 55-57, 1996.

PRUETT, J. H. Immunological control of arthropod ectoparasites - a review. *International Journal Parasitology*, v. 29, n. 1, p. 25-32, jan. 1999.

RIVAS, J. D. Reversed-phase high performance liquid chromatographic separation of lutein and lutein fatty acid esters from marigold flower petal powder. *Journal of Chromatography*, v. 3, n. 464(2), p. 442-447, mar. 1989.

ROCHA, U. R. Biologia e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini). *Bololetim Técnico da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal*, n. 3, p. 1-32, 1984.

RODRÍGUEZ, M. et al. Effect of vaccination with recombinant Bm 86 antigen preparation on natural infestations of *Boophilus microplus* in grazing dairy and beef pure and cross-bred cattle in Brazil. *Vaccine*, Surrey, v. 13, n. 18, p. 1804-1808, dez. 1995.

ROHR, C. J. *Estudo sobre Ixodidas do Brasil*. Rio de Janeiro: Gomes, Irmão & C., 1909. 226p.

SCHUMAKER, T. T. S.; OBA, M. S. P. Aspectos Morfo-biológicos de *Argas (Persicargas) miniatus*. Koch, 1844 (Ixodoidea, Argasidea). *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 32, n. 2, p. 161-173, 1988.

SINDAN - *Sindicato Nacional da Indústria de produtos para Saúde Animal*, 2010. Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal 2009, [online] 2010. [Citado em 20 dez. 2012]. Disponível em: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>.

- SINGH, B.; SOOD, R. P.; SINGH, V. Chemical composition of *Tagetes minuta* L. oil from Himachal Pradesh (Índia). *Journal of Essential Oil Research*, Wheaton, v. 4, n. 5, p. 525-526, 1992.
- SRIVASTAVA, R. et al. Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*. *Parasitology Research*, v. 104, n. 1, p. 149-153, dez. 2008.
- SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. *Nature*, v. 295, n. 5847, p. 320-321, jan. 1982.
- SZABÓ, M. P. J. et al. Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, v. 32, n. 1, p. 43-50, 1995.
- SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, n. 25, n. 10-11, p. 909-916, 2001.
- TERESCHUK, M. L.; BAIGORI, M. D.; ABDALA, L. R. Antibacterial activity of *Tagetes terniflora*. *Fitoterapia*, v. 74, n. 4, p. 404-406, jun. 2003.
- TIMBERLAKE, C. F.; HENRY, B. S. Plant pigments as natural food colors. *Endeavour*, v. 10, n. 1, p. 31-36, 1986.
- VALENTE, M.; BARRANCO, A.; SELLAIVE-VILLAROEL, A. B. Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1341-1343, out. 2007.
- VERONEZ, V. A. *Carrapatos (Acari: Ixodidae) presentes em várias fitofisionomias de uma reserva no cerrado em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil*. 2009. 59 f. Tese (Doutorado em Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2009.
- WALKER, J. B.; OLWAGE, A. The tick vectors of *Cowdria ruminantium* (Ixodidae, genus *Amblyomma*) and their distribution. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 54, n. 3, p. 353-379, set. 1987.
- WALKER, J. B.; KEIRANS, J. E.; HORAK, I. G. (Ed.) *The genus Rhipicephalus (Acari: Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world*. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. 643p.
- WHARTON, R. H.; NORRIS, K. R. Control of parasitic arthropods. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 135-164, jan. 1980.
- WHARTON, R. H. Acaricide resistance and alternative methods of tick control. In: *Ticks and tick-borne diseases*. Rome: FAO, p. 34-41, 1983.
- WILLADSEN, P.; KEMP, D. H. Vaccination with "concealed" antigens for tick control. *Parasitology Today*, v. 4, n. 7, p. 196-198, jul. 1988.

WILLADSEN, P. et al. Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. *Parasitology*, v. 110, n. Suppl., 43-50, 1995.

WILLADSEN, P. et al. Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86 alone or in combination with recombinant Bm91. *Parasite Immunology*, v. 18, n. 5, p. 241-246, maio. 1996.

WILLIAMS, L. A. D. Adverse effects of *Artocarpus altilis* Park and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). *Invertebrate Reproduction and Development*, v. 23, n. 2-3, p. 159-164, 1993.

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINADO PELA PESQUISA

Revista Brasileira de Parasitologia veterinária

Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticksCaracterização química e efeito acaricida do óleo essencial de *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) em carrapatosMarcos Valério Garcia¹; Jaqueline Matias¹; Jacqueline Cavalcante Barros¹; Dênis Pires de Lima²; Rosângela da Silva Lopes²; Renato Andreotti^{1*}

¹Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS

²Laboratório LP4, Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil

Correspondência: Renato Andreotti, Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte, Av. Radio Maia, 830, Vila Popular, Campo Grande, MS, Brasil e-mail: andreotti@cnpqc.embrapa.br

Recebido 12 de Setembro, 2012

Aceito 15 de Outubro, 2012

Abstract

The control of tick species that affect animal production is vital for the economic welfare of the cattle industry. This study focused on testing the acaricidal activity of the essential oil from the leaves and stems of *Tagetes minuta* against several Brazilian tick species, including *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense* and *Argas miniatus*. The chemical composition of the essential oil was determined by chromatography and spectroscopy analyses, which revealed the presence of monoterpenes. The adult immersion test (AIT) and the larval packet test (LPT) were used to evaluate the efficacy of *T. minuta* essential oil in tick

management at concentrations of 2.5, 5, 10, 20 and 40%. The results demonstrated that the *T. minuta* essential oil had over 95% efficacy against four species of ticks at a concentration of 20%. These results suggest that the essential oil of *T. minuta* could be used as an environmentally friendly acaricide.

Keywords: *Tagetes minuta*, ticks, phytotherapy, control.

Resumo

O controle de carrapatos que causa impacto na produção de bovinos possui importância econômica para a cadeia produtiva. Neste trabalho objetivou-se testar a atividade acaricida do óleo essencial das folhas e caules de *Tagetes minuta* contra várias espécies de carrapatos brasileiros, incluindo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense* e *Argas miniatus*. A composição química do óleo foi determinada por GC-MS e análises de espectroscopia de RMN, que revelaram a presença de monoterpenos. Na avaliação destas substâncias no controle do carrapato foram empregados os testes de imersão de adulto (TIA) e o de pacote de larvas (TPL) para o extrato de óleo de *T. minuta* nas concentrações de 2,5%; 5%; 10%; 20% e 40%. Os resultados do TPL e TIA demonstraram que o óleo essencial na concentração de 20% de *T. minuta* apresenta eficácia superior a 95% nas quatro espécies de carrapato. Estes resultados sugerem que o óleo essencial de *T. minuta* pode ser usado como um acaricida eficaz e com baixo impacto ambiental.

Palavras-chave: *Tagetes minuta*, carrapatos, fitoterápico, controle.

Introdução

Carrapatos são parasitas que afetam uma ampla gama de hospedeiros vertebrados e transmitem uma grande variedade de agentes patogênicos. São os ectoparasitas mais comuns de importância econômica na pecuária mundial e têm como a principal forma de controle o uso de acaricidas químicos (BARROS-BATTESTI et al., 2006) que são aplicados em diferentes intervalos e diferentes formas, tais como: imersão, sprays e pour-on.

Atualmente são catalogadas 61 espécies de carrapatos no Brasil (BARROS-BATTESTI et al., 2006). As quatro espécies de carrapatos analisadas neste estudo

representam grupos importantes para os animais domésticos de companhia ou para produção de alimentos, sendo também de grande relevância para a saúde pública e meio ambiente.

No Brasil, a exemplo do que acontece em todos os países que sofrem perdas por este parasita, há um dispêndio considerável de recursos para controlar os carrapatos que afetam os sistemas de produção animal. O prejuízo anual econômico na cadeia pecuária brasileira atribuído ao *Rhipicephalus microplus* foi estimado em 2 bilhões de dólares (GRISI et al., 2002). O país possui, atualmente, mais de 170 milhões de bovinos (ANUALPEC, 2009), e o mercado de parasiticidas tem um valor em vendas estimado em 960 milhões de dólares, o que responde a 34% do mercado de produto veterinário brasileiro (SINDAN, 2010).

Rhipicephalus sanguineus, no Brasil, é a principal espécie de carrapato encontrada em cães em áreas urbanas (SZABÓ et al., 2001) e pode ser raramente visto parasitando outros hospedeiros. O carrapato *Amblyomma cajennense* pode ser também encontrado parasitando cães, nesse caso restrito à áreas rurais (LABRUNA; PEREIRA, 2001), porém esta espécie é mais comum em cavalos e capivaras (LABRUNA, 2000). Ambas as espécies de carrapatos representam grupos importantes para a saúde pública.

Argas miniatus Koch (1844) é um carrapato que afeta as aves domésticas e outras, causando perdas de produtividade e podendo transmitir agentes patogênicos (LISBÔA et al., 2008).

De acordo com os critérios brasileiros do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, para o registro de novos produtos carrapaticidas, estes devem apresentar uma eficácia de no mínimo 95%. No entanto, a falta de um programa oficial de controle do carrapato permite que a maioria dos próprios produtores definam os critérios para o controle. O surgimento de novas cepas resistentes frente aos carrapaticidas continua a ser um importante motivador para o desenvolvimento de novos produtos antiparasitários (ANDREOTTI et al., 2011).

Vários estudos com extratos de plantas vêm sendo desenvolvidos como um método alternativo para diminuir ou até mesmo substituir o uso de produtos sintéticos no controle de parasitas. Por exemplo, o óleo de nim (*Azadirachta indica*) apartir de sementes foi avaliado e demonstrou possuir algumas propriedades acaricidas, tais como um efeito inibidor sobre a vitelogenina durante a ovogênese de artrópodes (WILLIAMS, 1993; KALAKUMAR et al., 2000).

Tagetes minuta é uma planta herbácea anual perene que pertence à família Asteraceae, de nome popular mais conhecido como “cravo-de-defunto” (PRAKASA et al., 1999). Esta planta é utilizada na medicina popular e é encontrada crescendo em regiões temperadas da América do Sul (MOYO; MASIKA, 2009). Anteriormente, Moghaddam et al. (2007) mostraram que os principais componentes do óleo de *T. minuta* são α -terpineol, (Z)- β -ocimeno, dihydrotagetonone, (E)-ocimenone, (Z)-tagetonone e (Z)-ocimenone.

Os óleos voláteis de plantas são produtos extraídos por aquecimento com vapor de água. Estas substâncias de plantas, atraentes ou repelentes, são principalmente de natureza terpenóide, de baixo peso molecular e voláteis. São, geralmente, conhecidas como óleos aromáticos essenciais e se acumulam em todas as partes da planta (KNAAK; FIUZA, 2010).

Os óleos essenciais correspondem à fração de vapor-destilado da planta, e que à temperatura ambiente apresentam-se na forma líquida (ENAN, 2001). A composição do óleo essencial de *T. minuta* varia de acordo com as diferentes partes da planta e do seu estágio de crescimento/maturação, mas não diferem em relação à origem geográfica. Ainda segundo estes autores na composição do óleo essencial de *T. minuta* da província de Chaco, os níveis de dihydrotagetonone atingiram um máximo de 42,9% nas folhas e os níveis de β -ocimeno e tagetonone atingiram um máximo de 45,4% e 32,9%, respectivamente, nas flores (CHAMORRO et al., 2008).

T. minuta pode ter vários efeitos biológicos, tais como atividade antimicrobiana (SOUZA et al., 2000), inseticida e acaricida (TOMOVA et al., 2005; MOYO; MASIKA, 2009). Os terpenos no óleo de *T. minuta* são responsáveis por efeitos tóxicos relatados em mosquitos (MACEDO, 1997) e também por possuir relatados de propriedades aphicidal (TOMOVA et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi caracterizar o óleo essencial de *T. minuta* por meio da análise GC-MS e avaliar suas propriedades acaricidas em quatro espécies de carrapatos encontradas no Brasil.

Material e métodos

Local de estudo

O estudo foi realizado em Campo Grande, MS, Brasil, na Latitude 20° 26' Sul e Longitude 54° 42' Oeste a 520 metros acima do nível do mar.

Planta e extração

As folhas e caules de *T. minuta* foram coletados de um viveiro, secados a 40°C por 72 horas e moídos em moinho com peneira de malha de 5 mm. A biomassa total de 1 kg foi submetida para destilação a vapor obtendo-se 185 mL do óleo essencial. Neste procedimento o material vegetal foi colocado sobre uma placa perfurada, que serviu como um suporte para homogeneizar o fluxo de vapor. A placa foi colocada sobre um extrator e um tubo (pescoço de ganso) foi acoplado para transferir os vapores que transportam os compostos orgânicos voláteis (óleo essencial) para o condensador.

Um recipiente foi colocado no final do condensador para separar o óleo essencial da água. O processo durou 2 horas dentro de um extrator com pressão atmosférica normal de 96-97 °C. A água residual a partir do isolamento foi removida por filtração com sulfato de sódio anidro e o óleo essencial armazenado em frascos âmbar.

Cromatografia do óleo extraído (GC-MS)

O óleo essencial foi analisado qualitativamente e quantitativamente usando um Shimadzu GCMS-QP2010, equipado com uma coluna Rtx ®-WAX Crossbond-Carbowax-polietileno glicol (30m x 0,25mm x 0,25µm espessura da película), um injetor de divisão, uma razão de 50:1, um sistema de injeção automática e um detector de massa seletiva. O teste foi realizado a 250°C; a temperatura do forno foi programada para aumentar de 50-210°C a 10°C/min usando He como gás de transporte. O fluxo de gás foi de 0,7 mL/min a uma velocidade constante de 30 cm/s e uma interface de 250°C. A temperatura do injetor foi de 200°C, e o volume da injeção foi de 1,0 µL.

A amostra foi preparada em CHCl₃. As percentagens de área de pico foram calculadas sem fatores de correção ou padrões internos. Os picos foram identificados por comparação de seus espectros de massa (MS) para os dados de espectrometria de massas do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) e FFNSC Wiley (aromas e fragrâncias naturais e compostos sintéticos) com base em uma análise do padrão de fragmentação obtido para cada componente e, numa comparação dos índices de retenção (IR) com o programa Shimadzu GCMS Solution, versão 2.53.

Espectroscopia RMN

Os espectros de RMN foram registrados num DPX-300 Avance Bruker instrumento equipado com uma sonda direta de 5 mm com Z-gradiente de campo, ^1H e ^{13}C RMN (a 300 e 75 MHz, respectivamente) e medidos a uma temperatura de 300K utilizando 10 mg/mL⁻¹ em solvente CDCl_3 . Tetrametilsilano foi utilizado como referência interna. Os desvios químicos são fornecidos na escala δ . As experiências foram realizadas utilizando sequências de impulso padrão, tal como sugerido pelo fabricante do equipamento.

Bioensaio

As teleóginas de *R. microplus*, *R. sanguineus*, *A. cajennense* e *A. miniatus*, foram coletadas de animais naturalmente infestados em Campo Grande e estavam livres de tratamento carrapaticida há no mínimo 45 dias. Os carrapatos foram previamente diagnosticados como resistentes para as famílias acaricidas: piretróides (PS), organofosforados (OF) e amitraz (Am).

As teleóginas foram lavadas com água e secadas com papel toalha. Um grupo de teleóginas foi usado no teste de imersão de adultos (TIA) e outro grupo foi incubado a $27 \pm 1,5^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 70-80% (DRUMMOND, 1973) por duas semanas até o término da postura e as larvas foram utilizadas para o teste do pacote de larvas (TPL) (FAO, 1984).

Teste de imersão de adultos – TIA

O teste TIA (DRUMMOND, 1973) foi usado para avaliar a atividade acaricida do extrato bruto de *T. minuta* (folhas e caule), óleo de nim (*Azadirachta indica*) e de acaricidas comerciais sobre carrapatos adultos. O extrato de *T. minuta* e óleo de nim foram diluídos em Tween 20 (2%). Uma curva de concentração foi realizada para definir a concentração ideal de Tween 20, que permitiu a estabilidade da solução aquosa. Os ensaios foram realizados em triplicata com grupos de dez fêmeas ingurgitadas de cada espécie de carrapato e os grupos foram acondicionados em placas

de Pétri e imersos no extrato de *T.minuta* ou óleo de nim em concentrações de 2,5; 5; 10; 20 e 40%, em Tween 20 a 2% e água destilada. Para os acaricidas estabelecidos, as concentrações utilizadas seguiram as recomendações dos fabricantes.

Os grupos tratados foram imersos durante cinco minutos, método recomendado segundo um estudo preliminar realizado por Rosado-Aguilar et al. (2008). Os grupos foram acondicionados em placas e incubados durante um período de 15 dias nas condições de temperatura e humidade acima descritos. As teleóginas foram avaliadas quanto à taxa de mortalidade, o peso dos ovos produzidos por cada grupo, e a eclodibilidade verificada com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

A taxa de mortalidade foi registrada diariamente. As teleóginas mortas foram reconhecidas pela presença de escuridão cuticular, lesões cutâneas hemorrágicas e falta de movimentos gerados nos tubos de Malpighi. Após 15 dias, os ovos de cada grupo foram pesados usando uma balança analítica. Cinquenta ovos de cada grupo foram colocados em frascos de vidro 25x95 mm e tampados com tecido, mantidas em condições semelhantes a das teleóginas e observados durante 21 dias. As taxas de eclosão foram estimadas e comparadas com o controle e os outros grupos experimentais. A percentagem de inibição da postura e de eclosão foi determinada para todos os grupos (CEN-AGUILAR et al., 1998).

Teste do Pacote de Larvas – TPL

O TPL foi utilizado para avaliar a atividade acaricida dos extratos vegetais contra quatro espécies de larvas de carrapatos (FAO, 1984). Tween-20 foi diluído com água destilada para uma concentração de 2% e utilizado para diluir os extratos vegetais de *T. minuta* e óleo de nim (concentrações: 2,5; 5,0; 10; 20 e 40%); e o Tween 20 diluído (2%) também sendo utilizado no grupo controle.

As larvas utilizadas neste estudo possuíam entre 7-14 dias de vida (FAO, 1984). Os frascos de incubação com a maior taxa de eclosão (90-100%) foram selecionados e colocados no centro de uma placa de Pétri com água e sabão para evitar a fuga. Foram transferidos 3 mL do extrato bruto da planta diluído para placas de Pétri, e cerca de 300-500 larvas foram imersas durante 10 minutos, e destas, depois, 100 larvas foram selecionados com um pincel nº.4 e delicadamente transferidas para os pacotes de papel filtro Whatman nº.1.

Os envelopes com as larvas (tratamento e controle) foram dobrados e fechados com prendedores de papel e rotulados com a marca de identificação adequada (solução testada e concentração). Os pacotes foram colocados em estufa a uma temperatura de $27 \pm 1,5$ °C e 70-80% de humidade relativa durante 24 h. Foram abertos 24 h pós-tratamento (PT) e observados usando microscópio estereoscópico. Foi registrado o número de larvas vivas e mortas, bem como, as larvas que não foram capazes de andar (também consideradas mortas), tal como recomendado pela FAO (1984). A mortalidade corrigida foi descrita utilizando a seguinte equação:

$$\text{Mortalidade corrigida} = \frac{\% \text{ mortalidade tratado} - \% \text{ mortalidade controle}}{100 - \% \text{ mortalidade do controle}} \times 100$$

Nos bioensaios nenhum dos grupos controles apresentaram mortalidade >5%.

Resultados

Cromatografia do extrato de óleo

Na Tabela 1 são apresentadas as análises qualitativas e quantitativas de uma amostra do extrato de óleo essencial que foi obtido a partir de *T. minuta*. Quatro componentes principais são mostrados e representam mais de 70% do óleo essencial. Estes componentes foram identificados como: limoneno (1), β -ocimeno (2), dihidrotagetone (3) e tagetone (4) (Figura 1).

Espectros de NMR

Os dados do espectro de ^1H e ^{13}C do óleo essencial foram compatíveis com os da literatura (SINGH et al., 2002).

Bioensaio

Na Tabela 2 estão descritos os efeitos do óleo essencial de *T. minuta* sobre os carrapatos objetos deste estudo. No teste TPL uma eficácia de mais de 95% nas

concentrações acima de 2,5% de óleo essencial de *T. minuta* foi observada para *A. miniatus*. Uma eficácia semelhante foi alcançada com uma concentração de 20% para os demais carrapatos (Ixodidae).

Ainda na Tabela 2, no teste TIA, das quatro espécies de carrapatos avaliadas, *A. miniatus* apresentou a eficácia recomendada de 95%, a partir da concentração com 5% de *T. minuta*. Enquanto isso, sobre as demais espécies de carrapatos *T. minuta* apresentou eficácia satisfatória, repetindo os resultados verificados no TPL.

Nenhuma atividade acaricida significativa com o uso do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*), foi observada contra larvas de *R. microplus*, em ambos os testes (Tabela 3).

As quatro espécies de carrapatos em estudo foram avaliadas usando os acaricidas comerciais disponíveis no mercado regional e os dados obtidos nos ensaios para pacote larval (TPL) e teste de imersão de adultos (TIA) são apresentados na Tabela 4.

Discussão

O óleo de *T. minuta* demonstrou eficácia satisfatória contra as quatro espécies de carrapatos deste estudo. Sua eficácia na concentração de 20% foi comparável aos acaricidas convencionais aqui avaliados e alcançou mais de 95% de controle efetivo, tal como exigido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento no Brasil.

Os extratos de plantas podem proporcionar uma alternativa viável para os acaricidas convencionais, pela disponibilidade local e obtenção a um baixo custo, além de serem de fácil aceitação pela comunidade em geral. Moyo et al. (2009) verificaram redução na carga parasitária de *R. microplus* ao utilizarem extrato de *T. minuta* obtido por infusão, enquanto que Ayacko (2008) relatou uma eficácia de 55% quando utilizou uma decocção.

É importante notar que o nível de atividade acaricida dos compostos pode variar, dependendo da espécie da planta, das condições de crescimento e da forma de extração das substâncias ativas, o que afeta diretamente a atividade dos mesmos. Por esta razão, os estudos sobre a composição química de derivados de plantas e seus efeitos deve dar especial atenção aos pontos acima mencionados. O processo de extração de solventes, as aplicações das técnicas de coleta de material no campo, a seleção e conservação de plantas também precisam ser bem avaliadas (KNAAK; FIUZA, 2010).

Os óleos essenciais são distribuídos num número limitado de famílias, tal como Asteraceae, e acumulam-se em órgãos vegetativas em diferentes partes da planta, como: as flores, folhas, cascas, raízes, rizomas, frutas e as sementes. Na maioria dos casos, a função biológica dos compostos terpenóides permanece indefinida. Entretanto é concebível, que eles tenham um papel ecológico, sendo que o mecanismo de ação tóxica ainda não foi esclarecido. Observações sugerem claramente que o potencial de atividade inseticida dos monoterpenóides, como acontece com os outros inseticidas, depende de vários fatores, incluindo a dose, espécie da planta, a superfície de aplicação, via de penetração e método de aplicação (Enan, 2001).

Há evidências de que o sistema octopaminérgico é alvo de vários monoterpenóides, quer sejam antagonistas ou agonistas. Os monoterpenóides são altamente seletivos contra insetos e são mais seguros para o ambiente do que os inseticidas frequentemente utilizados, tais como organofosforados, carbamatos e piretróides sintéticos (Enan, 2001).

Os resultados mostraram que o carrapato *A. miniatus* é pelo menos cinco vezes mais sensível ao óleo essencial do que os carrapatos da família Ixodidae, entretanto para que o produto obtido de *T. minuta* venha a se tornar um acaricida alternativo, é importante considerar uma formulação que seja eficiente e de baixo custo. Produtos vegetais podem ser utilizados em associação ou até mesmo como substitutos para os compostos sintéticos. Portanto, novos estudos de acompanhamento são necessários para validar esta estratégia com o material obtido desta planta. Uma das vantagens de se usar extratos de plantas é o desenvolvimento mais lento da resistência, em consequência do envolvimento de diferentes princípios ativos com diferentes mecanismos de ação (OLIVO et al., 2009).

No presente trabalho, comparou-se o efeito do óleo comercial de Nim com o de *T. minuta*. A uma concentração de 5%, o óleo essencial de *T. Minuta* apresentou baixa eficácia contra carrapatos Ixodidae. No entanto, obteve resultados satisfatórios contra *A. miniatus*. Vários estudos sobre o efeito do extrato de Nim, com resultados variáveis, têm sido conduzidos em diferentes espécies de carrapatos, tais como *Amblyomma hebraeum*, *Rhipicephalus evertsi*, *Hyalomma truncatum*, *R. (B.) decoloratus*, *R. (B.) microplus* e *Hyalomma anatolicum excavatum* (WILLIAMS, 1993; KALAKUMAR et al, 2000; WEBB; DAVID, 2002).

O uso do óleo de nim sobre animais naturalmente infestados com *R. microplus*, conforme verificado por Benavides et al. (2001), demonstrou eficácia semelhante ao de um acaricida comercial com base química Amitraz. Estes autores também observaram alta eficácia (100% de controle na reprodução) *in vitro* quando um extrato à base de éter foi usado, enquanto que o extrato à base de álcool resultou numa redução de 70% na reprodução de carrapatos. Os extratos de neem à base de etanol foram consideradas eficazes na inibição da oviposição. Williams (1993), Abdel-Shafy e Zayed (2002) também concluíram que o Nim pode ser usado para o controle de carrapatos em concentrações econômicas de 1,6% a 3,2%. Por outro lado, Sousa et al. (2000) produziram uma emulsão concentrada de frutos verdes, que foi testado em concentrações de 0,25 e 0,5% e mostrou uma eficácia variando de 46,7-82,6% e 16,6-89,0%, respectivamente. Fato semelhante foi observado por Broglio-Micheletti et al. (2010), que analisaram a eficiência de um extrato à base de hexano e óleo de Nim na concentração de 2%, e encontraram uma eficácia *in vitro* de 73,2% e 65%, respectivamente, contra *R. microplus*.

Estes resultados foram encontrados em diferentes laboratórios e condições, sendo que a eficácia do extrato não atingiu 95%, o que é exigido pelo Ministério da Agricultura no Brasil.

Os dados dos ensaios de TIA e TPL, utilizando formulações comerciais, corroboram com resultados de outros autores que demonstraram resistência de *R. (B.) microplus*. Apenas acaricidas contendo mistura de cipermetrina, clorpirifós, citronela e butóxido de piperonila, e outra, contendo diclorvós e clorpirifós apresentaram eficácias superiores a 95% contra os carrapatos ixodídeos (ANDREOTTI et al., 2011).

Considerando que *A. miniatus* e *A. cajennense* foram sensíveis a todos os produtos químicos testados, enquanto que *R. sanguineus* foi apenas resistente à cipermetrina, sendo este um princípio ativo com amplo uso para esta espécie. Os dados reforçam a noção de que o uso sistemático de um mesmo princípio ativo, sobre diferentes espécies de carrapatos, exerce pressões seletivas que resultam em diferentes níveis específicos de eficácia.

Os resultados de Knaak e Fiuza (2010) mostraram que a produção de óleo essencial é viável e rentável. No entanto, para a obtenção de produtos de alta qualidade e que sejam competitivos no mercado, são necessários incentivos para o desenvolvimento de técnicas modernas de cultivo, seleção e melhoramento de plantas. Assim, devem ter

continuidade as pesquisas que buscam novos compostos acaricidas os quais podem ser extraídos de plantas nativas e/ou cultivadas, a serem utilizados de forma integrada ou não com as alternativas de controle existentes. Em última análise, tais novas descobertas podem conduzir a uma redução no impacto da utilização de produtos químicos.

Conclusão

Conclui-se neste estudo que o óleo essencial de *T. minuta* tem potencial acaricida para o controle tanto em larvas quanto em adultos de quatro espécies de carrapatos no Brasil. Além de ter demonstrado ser um larvicida eficaz, aparentemente não agride o ambiente, sendo que os componentes ativos terpenóides são atóxicos. De modo geral são considerados seguros, sendo utilizados em fragrâncias e como aditivos alimentares.

A concentração recomendada do óleo de *T. minuta* a ser usado como um acaricida é de 20%, e a sua utilização como fitoterápico pode contribuir para a tendência de integração de produtos naturais no manejo do carrapato no Brasil.

Futuros esforços de investigação devem ser conduzidos com o objetivo de sintetizar quimicamente as moléculas ativas com atividade acaricida encontrado nos óleos essenciais e avaliar a sua eficácia.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa Gado de Corte (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, e à Fundect-MS (Fundação de Pesquisa do Estado de Mato Grosso do Sul) pelo apoio financeiro.

Referências

Abdel-Shafy S, Zayed AA. In vitro acaricidal effect plant extract of neem seed oil (*Azadirachata indica*) on egg, immature and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Vet Parasitol* 2002; 106(1): 89-96. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00023-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00023-7)

Andreotti R, Guerrero FD, Soares MA, Barros JC, Miller RJ, León AP. Acaricide resistance of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(2): 127- 133. PMID:21722487. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000200007>

Anuário da pecuária brasileira – ANUALPEC. São Paulo: Instituto FNP, 2009.

Ayacko W. *Alternative method of tick control: The organic farmer*. 2008. [cited 2012 Nov. 21]. Available from: http://www.biovision.ch/fileadmin/pdf/d/services/downloads/organic_farmer/org_farmer32_reduced.pdf

Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. *Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrativo para identificação de espécies*. São Paulo: Butantan; 2006.

Benavides OE, Hernandez MG, Romero NA, Castro AH, Rodriguez BJL. Preliminary evaluation of neem (*Azadirachta indica*) extracts as an alternative for cattle tick, *Boophilus microplus* control. *Rev Colomb Entomol* 2001; 27(1-2): 1-8.

Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 48 de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. *Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 16 maio 1997. Seção 1. p. 10165. [cited 2012 Nov. 21]. Available from: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=abrirArvoreTematicaNew>.

Broglio-Micheletti SMF, Dias NS, Valente ECN, Souza LA, Lopes DOP, Santos JM. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(1): 46-50. PMID:20385059. <http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.01901008>

Cen-Aguilar JF, Rodriguez-Vivas RI, Dominguez-Alpizar JL, Wagner GG. Studies on the effect on infection by *Babesia* sp. on oviposition of *Boophilus microplus* engorged females naturally infected in the Mexican tropics. *Vet Parasitol* 1998; 78(4): 253-257. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00148-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00148-4)

Chamorro ER, Ballerini G, Sequeira AF, Velasco GA, Zalazar MF. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. *J Argentine Chem Soc* 2008; 96(1-2): 80-86.

Drummond RO, Ernst SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory tests of insecticides. *J Econ Entomol* 1973; 66(1): 130-133. PMID:4690254.

Enan E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2001; 130(3): 325-337. [http://dx.doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00255-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00255-1)

Food and Agriculture Organization – FAO. Acaricide resistance. In: Food and Agriculture Organization – FAO. *Ticks and tick-borne disease control: A practical field manual*. Rome: FAO; 1984. vol. 1. Tick control, p. 246-299.

Grisi L, Massard CL, Moya-Borja GE. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Vet* 2002; 21(125): 8-10.

Kalakumar B, Kumar HSA, Kumar BA, Reddy KS. Evaluation of custard seed oil and neem oil as acaricides. *J Vet Parasitol* 2000; 14(2): 171- 172.

Knaak N, Fiuza LM. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotrop. Biol.Conserv.* 2010; 5(2):120-132. <http://dx.doi.org/10.4013/nbc.2010.52.08>

Labruna MB, Pereira MC. Carrapato em cães no Brasil. *Clin Vet* 2001; 30(1): 24-32.

Labruna MB, Home VSF, Heinemann MB, Ferreira Neto JS. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Uruará, Eastern Amazon, Brazil. *J Med Entomol* 2000; 37(5): 774-776. PMID:11004794. [http:// dx.doi.org/10.1603/0022-2585-37.5.774](http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-37.5.774)

Lisbôa RS, Guedes Junior DS, Silva FJM, Cunha NC, Machado CH, Fonseca AH. Alterações nos parâmetros hematológicos de *Gallus gallus domesticus* experimentalmente infectados por *Borrelia anserina*. *Pesq Vet Bras* 2008; 28(10): 527-532. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008001000014>

Macêdo ME, Consoli RAGB, Grandi TSM, Anjos AMG, Oliveira AB, Mendes NM, et al. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92(4): 565-570. PMID:9361755. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761997000400024>

Moghaddam M, Omidbiagi R, Sefidkon F. Chemical composition of the essential oil of *Tagetes minuta* L. *J Essent Oil Res* 2007; 19(1): 3-4.

Moyo B, Masika PJ. Tick control methods used by resource-limited farmers and the effect of ticks in cattle in rural areas of the Eastern Cape Province, South Africa. *Trop Anim Health Prod* 2009; 41(4): 517-523. PMID:18704741. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-008-9216-4>

Moyo B, Masika PJ, Dube S, Maphosa V. An *in-vivo* study of the efficacy and safety of ethno-veterinary remedies used to control cattle ticks by rural farmers in the Eastern Cape Province of South Africa. *Trop Anim Health Prod* 2009; 41(7): 1569–1576. PMID:19396566. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-009-9348-1>

Olivo CJ, Heimerdinger A, Ziech MF, Agnolin CA, Meinerz GR, Both F, et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. *Cienc Rural* 2009; 39(4): 1131-1135. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009000400026>

Prakasa EVS, Syamasundar KV, Gopinath CT, Ramesh S. Agronomical and Chemical studies on *Tagetes minuta* grown in a red soil of a semiarid tropical region in India. *J Essent Oil Res* 1999; 11(2): 259-261. [http:// dx.doi.org/10.1080/10412905.1999.9701127](http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1999.9701127)

Rosado-Aguilar JA, Aguilar-Caballero AJ, Rodríguez-Vivas RI, Borges-Argaez R, García-Vázquez Z, Méndez-González M, et al. Actividad ixodocida de extractos crudos de *Diospyros anisandra* contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Trop Subtrop Agroec* 2008; 8(3): 297-301.

Sindicato Nacional da Indústria de produtos para Saúde Animal – SINDAN. Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal 2009, [online] 2010. [cited 10 June 2011]. Available from: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index/>.

Singh B, Joshi VP, Kaul VK. Dihydrotagetone alcohol and a method for preparation thereof from *Tagetes minuta* oil. New Delhi: Council or Scientific and Industrial Research. US Patent 6.492.567; 2002.

Souza CAS, Avancini CAM, Wiest JA. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L. Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2000; 37(6): 429-433. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962000000600001>

Szabó MPJ, Cunha TM, Pinter A, Vicentini F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. *Exp Appl Acarol* 2001; 25(10-11): 909-916. PMID:12455880. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020433003028>

Tomova BS, Waterhouse JS, Doberski J. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomol Exp App* 2005; 115(1): 153-159. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00291.x>

Webb EC, David M. The efficacy of neem seed extract (*Azadirachta indica*) to control tick infestation in Tswana, Simmentaler and Brahman cattle. *South African J Anim Sci* 2002; 32(1): 1-6. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v32i1.3784>

Williams LAD. Adverse effects of *Artocarpus altilis* Park. and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick, *Boophilus microplus*

(Canest.). *Invert Reprod Development* 1993; 23(2-3): 159-164.
<http://dx.doi.org/10.1080/07924259.1993.9672307>

Tabela 1: Principais componentes químicos do óleo essencial de *Tagetes minuta* (Asteraceae).

Tabela 2: Eficácia do extrato de óleo de *Tagetes minuta* (Asteraceae) usando o Teste de Imersão de Adultos - TIA e o Teste de Pacote de Larvas -TPL com diferentes concentrações em quatro espécies de carrapatos.

Tabela 3: Eficácia do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*), utilizando o Teste de Imersão de Adultos - TIA e o Teste de Pacote de Larvas - TPL.

Tabela 4: Eficácia dos acaricidas comerciais utilizando a concentração recomendada pelos fabricantes para o controle do carrapato, usando o Teste de Imersão de Adulto (TIA) e o Teste do Pacote de Larvas (LPT).

Composto	Tempo de retenção (min.)	Percentagem de área
Limoneno (1)	9.52	6.96
β -Ocimeno (2)	9.62	5.11
Dihydrotagetone (3)	9.89	54.21
Tagetone (4)	11.60	6.73

Especies de carrapatos	Teste	Concentrações %							
		0,3	0,6	1,25	2,5	5	10	20	40
<i>R. microplus</i>	TIA	5	5	9	22	45	79	95	100
	TPL	2	2	3,5	26,5	58	92,5	100	100
<i>R. sanguineus</i>	TIA	2	3	12	27	65	89	100	100
	TPL	3	3	4	8	21	80	100	100
<i>A. cajennense</i>	TIA	2	2	9	26	61	79	100	100
	TPL	3	8,5	9	16	45	62,5	95	100
<i>A. miniatus</i>	TIA	5	12	31	69	97	100	100	100
	TPL	12	32	68	100	100	100	100	100

Especies de carrapatos	Teste	Concentrações %							
		0,3	0,6	1,25	2,5	5	10	20	40
<i>R. microplus</i>	TIA	0,1	1,3	2,6	2	3	16	34	46
	TPL	0	0,3	1	1,2	2,8	19	36	55
<i>R. sanguineus</i>	TIA	1,1	2	2,9	5,9	7,8	19	42	55
	TPL	0,3	0,9	1,4	2,9	6	15	39	45
<i>A. cajennense</i>	TIA	0,6	2,1	3	3,4	5,3	16	38	41
	TPL	1,1	1,0	2,9	2,8	4	15	37	56
<i>A. miniatus</i>	TIA	0,3	10	53	74	96	100	100	100
	TPL	9	26	61	79	100	100	100	100

Espécies de carrapatos	Teste	Base química					
		Cipermetrina	Amitraz	Cpt, Cpf, Ct, Bupi (*)	Ddvp, Dmt (*)	Ddvp, Cpt (*)	Ddvp, Cpf (*)
<i>R. microplus</i>	TIA	14	39	98	28	16	100
	TPL	36	26	100	35	28	100
<i>R. sanguineus</i>	TIA	54	100	100	95	98	100
	TPL	53	100	100	96	95	100
<i>A. cajennense</i>	TIA	95	99	100	97	95	100
	TPL	100	98	100	100	99	100
<i>A. miniatus</i>	TIA	100	100	100	100	100	100
	LPT	99	99	100	100	100	100

(*) Associações. Abreviaturas: Cipermetrina: CPT; clorpirifós: CPF; Deltametrina: Dmt; citronela: Ct; Butóxido de Piperolina: Bupi; Dichlorvós (DDVP): DDVP. O teste TIA e o teste TPL foram realizados em triplicata.

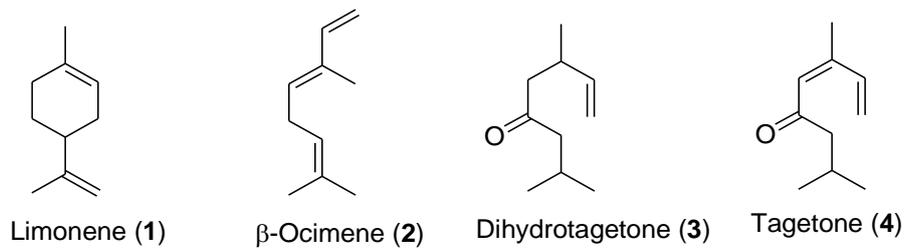


Figura 1: Estruturas químicas dos compostos identificados no óleo essencial de *Tagetes Minuta* (Asteraceae).