

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Tatiane de Oliveira Souza Senra

Avaliação da atividade acaricida de monoterpenos e fenilpropanóides sobre *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) e observações preliminares sobre o estudo de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.

Juiz de Fora

2013

Tatiane de Oliveira Souza Senra

Avaliação da atividade acaricida de monoterpenos e fenilpropanóides sobre *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) e observações preliminares sobre o estudo de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Erik Daemon

Co-orientador: Msc. Caio Márcio de Oliveira Monteiro

Juiz de Fora

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Senra, Tatiane de Oliveira Souza.

Avaliação da atividade acaricida de monoterpenos e fenilpropanóides sobre *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) e observações preliminares sobre o estudo de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais / Tatiane de Oliveira Souza Senra. -- 2013.

60 p. : il.

Orientador: Erik Daemon

Coorientador: Caio Márcio de Oliveira Monteiro

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2013.

1. Monoterpenos. 2. Fenilpropanóides. 3. Carrapatos. 4. Controle. 5. Aves. I. Daemon, Erik, orient. II. Monteiro, Caio Márcio de Oliveira, coorient. III. Título.

Tatiane de Oliveira Souza Senra

Avaliação da atividade acaricida de monoterpenos e fenilpropanóides sobre *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) e observações preliminares sobre o estudo de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Aprovada em 7 de fevereiro de 2013.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Erik Daemon (Orientador)

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr^a Ana Carolina de Souza Chagas

Pesquisadora Embrapa Pecuária Sudeste - Parasitologia

Prof. Dr. Roberto Júnio Pedrosa Dias

Universidade Federal de Juiz de Fora

À minha família que esteve sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Erik Daemon, pela oportunidade de fazer parte desta equipe. Por sua amizade, apoio e conhecimentos compartilhados.

À nossa Equipe LAP: Fernanda, Viviane, Ralph, Aline, Caio, Diego, Renata, Lúcio, Tatiane Pinheiro e Cristiane pelos inesquecíveis momentos vividos, amizade e ajuda na realização dos trabalhos.

À minha grande amiga Viviane, que conheço desde a graduação, por sua amizade e apoio. Em especial, aos amigos Caio e Ralph, que estiveram presente durante toda a minha jornada. Vocês são exemplos a serem seguidos.

Ao Ricardo Montanari e Tiago Lage, pelas sugestões preciosas na qualificação.

Ao Geovany Amorim Gomes e Mario Geraldo de Carvalho pela parceria produtiva.

Aos funcionários da Pós-Graduação, Rita e Osmar pela disposição, e à nossa querida Rosângela pelo carinho.

À minha família, André e Heitor pelo apoio, amor e compreensão nos momentos de ausência.

Aos meus sogros, Vera e Proto, pelo incentivo, carinho e confiança.

À minha mãe Lena (*in memoriam*), meu pai Júlio e minha irmã Juliana, que mesmo à distância sempre torceram por mim.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Sumário

Lista de tabelas.....	viii
Lista de ilustrações.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
1 Introdução.....	15
2 Revisão bibliográfica.....	17
3 Referências bibliográficas.....	23
4 Avaliação da atividade acaricida do carvacrol, (<i>E</i>)-cinamaldeído, <i>trans</i>-anetol e linalol sobre larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> e <i>Dermacentor nitens</i> (Acari: Ixodidae).....	28
4.1 Resumo.....	28
4.2 Introdução.....	29
4.3 Material e Métodos.....	30
4.4 Resultados.....	32
4.5 Discussão.....	34
4.6 Referências bibliográficas.....	37
5 Atividade carrapaticida do carvacrol, timol, eugenol e (<i>E</i>)-cinamaldeído sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e <i>Amblyomma cajennense</i> (Acari: Ixodidae).....	41
5.1 Resumo.....	41
5.2 Introdução.....	42
5.3 Material e Métodos.....	43
5.4 Resultados.....	45
5.5 Discussão.....	48
5.6 Referências bibliográficas.....	51
6 Observações preliminares sobre a presença de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.....	55
6.1 Introdução.....	55
6.2 Material e Métodos.....	56
6.3 Resultados.....	56

6.4 Conclusão.....	59
6.5 Referências bibliográficas.....	60

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Mortalidade de larvas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações de linalol, *trans*-anetol, carvacrol e (*E*)-cinamaldeído em formulação etanólica sob condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).....32
- Tabela 2.** Mortalidade de larvas de *Dermacentor nitens* tratados com diferentes concentrações de linalol, *trans*-anetol, carvacrol e (*E*)-cinamaldeído em formulação etanólica sob condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).....33
- Tabela 3.** Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).....45
- Tabela 4.** Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).....45
- Tabela 5.** Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).....46
- Tabela 6.** Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).47

Tabela 7. Espécies e nomes populares de aves da região de Mata Atlântica de Juiz de Fora, Minas Gerais.....	57
--	----

Lista de Ilustrações

- Figura 1.** Estruturas dos terpenóides e fenilpropanóides submetidos a teste de atividade acaricida frente as larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*.....31
- Figura 2.** Fotos da montagem do teste de pacote de larvas realizado com larvas não ingurgitadas.....43
- Figura 3.** Fotos da montagem do teste de pacote de larvas realizado com ninfas não ingurgitadas 43
- Gráfico 1.** Distribuição do percentual de hospedeiros examinados distribuídos entre as famílias Thraupidae, Acciptridae, Icteridae, Tyrannidae, Turdidae, Cardinalidae, Tytonidae, Cracidae e Bucconidae existentes na região de Mata Atlântica de Juiz de Fora, Minas Gerais.....57

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade carrapaticida de formulações hidroetanólicas do carvacrol, (*E*)-cinamaldeído, *trans*-anetol e linalol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*. Também foram realizados testes avaliando a atividade acaricida do carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em diferentes concentrações sobre larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense*. Todas as substâncias foram testadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml, enquanto o timol foi testado nas mesmas concentrações em mg/ml; foram feitas 10 repetições para cada tratamento. Também foram feitos grupos controle com etanol na concentração necessária para solubilizar cada substância. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80±10%) por 24 horas e após este período, a mortalidade foi avaliada. Nos testes envolvendo larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, o carvacrol e (*E*)-cinamaldeído causaram mortalidade superior a 98% em todas as concentrações testadas, o *trans*-anetol a partir da concentração de 5,0 µl/ml também causou a morte de 100% das larvas; entretanto, o linalol mesmo na maior concentração não foi eficiente, matando apenas 14,5 e 8,4% de *R. microplus* e *D. nitens*, respectivamente. Nos testes com larvas de *A. cajennense* a concentração de 5,0 µl/ml do carvacrol, timol e (*E*)-cinamaldeído causou a morte de 100% dos ixodídeos; para o eugenol este percentual só foi observado a partir da concentração de 15,0 µl/ml. Nos testes realizados com larvas de *R. sanguineus*, os grupos tratados com a menor concentração (2,5 µl/ml) de carvacrol e (*E*)-cinamaldeído apresentaram mortalidade de 100%; entretanto, para o eugenol, esse percentual só foi observado a partir da concentração de 10,0 µl/ml. Para ninfas desse mesmo ixodídeo, os monoterpenos carvacrol e timol a partir da menor concentração (2,5 µl/ml ou mg/ml) causaram letalidade de 100% em todas as concentrações, diferindo dos resultados obtidos para o eugenol e (*E*)-cinamaldeído, uma vez que mortalidade de 100% com a utilização dessas substâncias só foram observadas a partir da concentração de 10,0 µl/ml. Nos testes com *A. cajennense* a mortalidade das larvas tratadas com carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído na concentração de 2,5 µl/ml foi de 45, 62,7, 10,2 e 81,6%, chegando a 100% na concentração de 5,0 µl/ml para o carvacrol, timol e (*E*)-cinamaldeído. Para o eugenol esta taxa de mortalidade foi observada a partir da concentração de 15,0 µl/ml. Para ninfas os testes com carvacrol e timol causaram a morte de 100% dos indivíduos a partir das concentrações de 5,0 µl/ml e 10,0 mg/ml, respectivamente; o eugenol só atingiu mortalidade de 100% na concentração de 20,0 µl/ml, enquanto a

mortalidade máxima no (*E*)-cinamaldeído não ultrapassou 64%. O conjunto de resultados obtidos neste estudo indica que os monoterpenos carvacrol e timol e os fenilpropanóides eugenol e (*E*)-cinamaldeído possuem atividade deletéria sobre estes ectoparasitos. Assim, existe a necessidade de novas pesquisas envolvendo outros estágios de desenvolvimento desses carrapatos, a investigação do sinergismo entre as substâncias, além de testes em condições naturais. Quanto a observação preliminar sobre a presença de ectoparasitos em aves silvestres, foram examinadas 72 aves de 17 espécies com prevalência de 29,2% de ectoparasitos.

Palavras-chave: monoterpenos; fenilpropanóides; carrapatos; controle; ectoparasitos; aves.

Abstract

The present study aimed to evaluate the efficiency of hydroethanolic formulations of carvacrol, (*E*)-cinnamaldehyde, *trans*-anetol and linalool against larval stages of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens*. It was also realized assays to evaluate the acaricide effect of carvacrol, thymol, eugenol and (*E*)-cinnamaldehyde in different concentrations in larvae and nymph of *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma cajennense*. All substances were tested in concentrations of 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 and 20.0 µl/ml, thymol, tested in mg/ml; 10 repetitions were made for each treatment. It was also made with ethanol in a concentration necessary to solubilize each substance. The experimental groups were maintained in BOD incubator ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR $>80\pm 10\%$) during 24 hours and after this period the mortality was available. In the assays with *R. microplus* and *D. nitens* larvae, carvacrol and (*E*)-cinnamaldehyde caused mortality higher than 98% in all the tested concentrations, the *trans*-anetol caused a mortality of 100% in larvae from a concentration of 5.0 µl/ml; however, linalool was not efficient even at the higher concentration causing a mortality of only 14.5 and 8.4% in *R. microplus* and *D. nitens*, respectively. In assays realized with *A. cajennense* larvae, the concentration of 5.0 µl/ml of carvacrol, thymol and (*E*)-cinnamaldehyde caused a mortality of 100%; for eugenol this percentage was obtained from the concentration of 15.0 µl/ml. The test realized with *R. sanguineus* larvae, groups treated with the lower concentration (2.5 µl/ml) of carvacrol and (*E*)-cinnamaldehyde presented a mortality of 100%; nevertheless, for eugenol this percentage was observed only from the concentration of 10.0 µl/ml. For nymphs of the same species, the monoterpenes carvacrol and thymol from the lower concentration (2.5 µl/ml or mg/ml) caused a lethality of 100% in all concentrations, different from results obtained for eugenol and (*E*)-cinnamaldehyde, once mortality of 100% with these substances were observed only from the concentration of 10.0 µl/ml. In assays with *A. cajennense*, the mortality of larvae treated with carvacrol, thymol, eugenol and (*E*)-cinnamaldehyde in concentrations of 2.5 µl/ml of 45, 62.7, 10.2 and 81.6%, reaching 100% in the concentration of 5.0 µl/ml for carvacrol, thymol and (*E*)-cinnamaldehyde. For eugenol mortality rate was observed from the concentration of 15.0 µl/ml. For nymphs, tests with carvacrol and thymol caused a mortality of 100% of individuals from concentrations of 5.0 µl/ml and 10.0 mg/ml, respectively; the eugenol only reached this mortality rate at 20.0 µl/ml concentration, while the maximum mortality with (*E*)-cinnamaldehyde did not exceed 64%. The results indicate that monoterpenes and

phenylpropanoids, eugenol and (*E*)-cinnamaldehyde have deleterious activity in this ectoparasites. Thus, new researches are needed with other developmental stages of these tick species, the investigation of synergism between the substances, aside from tests in natural conditions. As regarding the preliminary observations of the presence of ectoparasites in wild birds, were examined 72 birds from 17 species different with prevalence of 29.2% ectoparasites.

Key-words: monoterpenes; phenylpropanoids; ticks; control; ectoparasites; birds.

1 Introdução

Existem plantas que apresentam atividade repelente contra insetos herbívoros. Esta atividade é realizada por componentes presentes nos óleos essenciais, produzidos pelo metabolismo secundário das mesmas (SIMAS *et al.*, 2004). Os óleos essenciais produzidos pelas plantas são mecanismos de comunicação intra/interespecíficos, sendo produto do metabolismo secundário, utilizados por elas em fenômenos envolvendo competição e defesa. Estas substâncias são utilizadas pelo homem com diversas finalidades, sendo sintetizadas e exploradas por ele, empregadas na indústria farmacêutica e alimentícia; estudos recentes têm dado ênfase aos produtos de origem vegetal com propriedades biocidas (REGNAULT-ROGER & PHILOGÈNE, 2008).

Carrapatos são ectoparasitos importantes para saúde pública e animal, sendo responsáveis por diversos danos causados aos hospedeiros, como transmissão de agentes infecciosos e injúrias nos animais parasitados. O controle destes ectoparasitos é feito predominantemente por carrapaticidas, mas a utilização indiscriminada e sem critérios técnicos tem causado danos, como a intoxicação de humanos e animais e a seleção de carrapatos resistentes (KAAYA *et al.*, 1996; BORGES *et al.*, 2011). Estes ixodídeos possuem grande importância médico-veterinária, causando espoliação sanguínea, estresse, transmissão de agentes infecciosos, predisposição a miíases e infecções bacterianas secundárias em seus hospedeiros (GUGLIELMONE *et al.*, 2006; LABRUNA & MACHADO, 2006; DANTAS-TORRES 2008; LABRUNA *et al.*, 2006; PRATA *et al.*, 1996).

A utilização de substâncias de origem vegetal é uma alternativa promissora, pois pode representar uma forma mais segura para o controle desses ectoparasitos, diminuindo os riscos de contaminação ambiental e intoxicação dos animais e do homem (KOUL *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2011). Alternativas para o controle destes ixodídeos tem sido alvo de diversas pesquisas; com este propósito, o presente estudo teve a finalidade de investigar a atividade acaricida de formulações hidroetanólicas do carvacrol, (*E*)-cinamaldeído, *trans*-anetol e linalol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) e *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897). Do mesmo modo, foram realizados testes avaliando atividade do carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em diferentes concentrações sobre larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806).

As substâncias utilizadas foram escolhidas com base em estudos pré-existentes que comprovam atividades dos monoterpenos carvacrol, timol e linalol e dos fenilpropanóides, eugenol, (*E*)-cinamaldeído e *trans*-anetol como antioxidantes, antimicrobianos, acaricidas, repelentes e/ou inseticidas (LETIZIA *et al.*, 2003; ALI *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2008; DOLAN *et al.*, 2009; CETIN *et al.*, 2010; SOUTO *et al.*, 2011; ZENG *et al.*, 2011; NA *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2005; DAEMON *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2012).

2 Revisão bibliográfica

2.1 Carrapatos

Carrapatos são ectoparasitos importantes para saúde pública e animal, sendo responsáveis por diversos danos causados aos hospedeiros como transmissão de agentes infecciosos e por causarem injúrias aos seus hospedeiros como espoliação sanguínea, estresse, transmissão de agentes infecciosos, predisposição a miíases e infecções bacterianas secundárias (GUGLIELMONE *et al.*, 2006; LABRUNA & MACHADO, 2006). Dentre os carrapatos de importância médica veterinária estão o *R. microplus*, *D. nitens*, *A. cajennense* e *R. sanguineus*.

Rhipicephalus microplus é um ectoparasito de bovinos com grande importância econômica nos países tropicais e subtropicais (PEREIRA, 2008), sendo considerado o carrapato mais importante do ponto de vista econômico na região Neotropical (MARTINS *et al.*, 2006). Os encargos financeiros causados por este carrapato às criações de gado referentes ao controle, somado os prejuízos causados aos hospedeiros como transmissão de patógenos, perda de peso, diminuição da produção de leite e desvalorização do couro, causam prejuízo de dois bilhões de dólares anuais no Brasil (GRISI *et al.*, 2002).

O carrapato da orelha do cavalo, como é conhecido popularmente *D. nitens* localiza-se principalmente no pavilhão auricular e divertículo nasal dos equinos (GUIMARÃES *et al.*, 2001). Além dos danos diretos causados aos hospedeiros como perda da rigidez do pavilhão auricular e predisposição à miíases, esta espécie é transmissora de *Babesia caballi*, agente etiológico da piroplasmose equina.

Amblyomma cajennense é outro carrapato que tem equinos como hospedeiros preferenciais, conhecido popularmente como “carrapato estrela”; entretanto devido à sua baixa especificidade parasitária, principalmente em estágios imaturos, este ixodídeo também pode ser encontrado parasitando outros animais como cervos, bovinos, roedores, canídeos e aves (GUIMARÃES *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2004). Nos sistemas de exploração animal, estes ixodídeos possuem grande importância do ponto de vista da saúde pública, como transmissão de bactérias causadoras de Febre Maculosa, além de importância econômica-zootécnica nos sistemas de exploração animal. As infestações por este carrapato

ocasionam perdas econômicas importantes, em decorrência da queda de produtividade dos animais e dos gastos com o uso de produtos carrapaticidas (PRATA *et al.*, 1996).

Considerado como principal ectoparasito de cães no Brasil, *R. sanguineus*, representando uma cifra considerável no faturamento da linha veterinária das indústrias farmacêuticas (LABRUNA, 2004). Este ectoparasito é responsável pela transmissão de agentes patogênicos aos seus hospedeiros como sendo vetor de agentes patogênicos, como *Babesia canis* (PIANA & GALLI-VALERIO, 1895) e *Ehrlichia canis*, além disso, apresenta importância do ponto de vista zoonótico (DANTAS-TORRES 2008; LABRUNA *et al.*, 2006).

2.2 Controle de Carrapatos

O controle destes ectoparasitos tem sido feito predominantemente por carrapaticidas sintéticos; entretanto, a utilização indiscriminada e sem critérios técnicos tem levado a seleção de carrapatos resistentes. Segundo FURLONG *et al.* (2007) *R. microplus* apresenta resistência às principais bases químicas disponíveis no mercado. Desta forma torna-se pertinente o desenvolvimento de novas estratégias de controle destes ectoparasitos (CLEMENTE *et al.*, 2010), que possam minimizar a utilização de produtos químicos devido aos riscos de intoxicação dos animais, do homem e contaminação do ambiente (KOUL *et al.*, 2008).

Os metabólitos biossintetizados pelas plantas exercem funções biológicas nos vegetais, dentre elas a defesa contra microorganismos e insetos (SIMAS *et al.*, 2004). Estudos recentes têm dado atenção especial aos produtos de origem vegetal com propriedades biocidas para serem utilizados no controle de pragas (REGNAULT-ROGER & PHILOGENE, 2008). Além de estudos com óleos essenciais e extratos vegetais, pesquisas também têm demonstrado que determinados compostos voláteis que compõem os óleos possuem atividade carrapaticida sobre diferentes espécies e estágios de carrapatos (FERRARINI *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011; CHAGAS *et al.*, 2012; SCORALIK *et al.*, 2012).

Considerando estudos que comprovam atividades dos monoterpênicos, carvacrol, timol e linalol e dos fenilpropanóides, eugenol, (*E*)-cinamaldeído e *trans*-anetol como antioxidante, antimicrobiana, acaricida, repelente e/ou inseticida (LETIZIA *et al.*, 2003; ALI *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2008; DOLAN *et al.*, 2009; CETIN *et al.*, 2010; SOUTO *et al.*, 2011; ZENG *et al.*, 2011; NA *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2005), estas substâncias foram eleitas para a

realização do estudo que avalia sua atividade acaricida sobre os carrapatos *R. microplus*, *D. nitens*, *A. cajennense* e *R. sanguineus*.

A identificação, isolamento e síntese desses componentes majoritários existentes em óleos essenciais de plantas, permite o estudo da atividade dessas substâncias isoladas sobre diferentes organismos (COMBRINK *et al.*, 2011). Estudos *in vitro* são essenciais para eleição de substâncias com atividade acaricida uma vez que pode haver diferentes graus de eficiência para diferentes espécies e estágios de carrapatos (FERRARINI *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011; CHAGAS *et al.*, 2012; SCORALIK *et al.*, 2012).

2.3 Monoterpenos

Com relação ao carvacrol existem alguns estudos que demonstraram que óleos essenciais ricos neste monoterpene possuem atividade sobre carrapatos; COSKUN *et al.* (2008) observaram a eficácia acaricida do óleo essencial de *Origanum onites* L. (Lamiaceae) e do seu componente majoritário, carvacrol sobre adultos de *Rhipicephalus turanicus* Pomerantzev, 1940. CETIN *et al.* (2009) avaliaram a ação do óleo essencial de *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) sobre adultos de *R. turanicus* e observaram a morte de 100% dos indivíduos após duas horas de exposição. Tais autores atribuíram a alta taxa de mortalidade à presença de carvacrol. Em estudos em campo DOLAN *et al.* (2009) verificaram que o carvacrol suprimiu populações de *Amblyomma americanum* Linnaeus, 1758 e *Ixodes scapularis* Say, 1821 após a aspersão sobre a vegetação na concentração de 5%.

O carvacrol teve sua atividade carrapaticida sobre *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 evidenciada por CETIN *et al.* (2010) que observaram alta taxa de mortalidade dos adultos. O mesmo foi observado por MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* (2011a) que testaram o óleo de *Lippia graveolens* (Verbenaceae), sobre larvas de *R. microplus*. Já atividade repelente do carvacrol sobre carrapatos foi observada por JORDAN *et al.* (2012) que avaliaram o tempo de repelência desta substância sobre *Ixodes scapularis* Say, 1821 e *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758).

Outro representante dos monoterpenos, o timol, teve sua atividade repelente avaliada por NOVELINO *et al.* (2007a) que verificaram também o mentol, ácido salicílico e salicilato de metila sobre larvas de *R. microplus*, sendo o timol o único a apresentar duas ações concomitantes: repelência e mortalidade das larvas. Ainda em relação ao timol, NOVELINO

et al. (2007b) verificaram mortalidade de 100% em larvas de *R. microplus* na concentração de 1%.

A atividade acaricida do timol em formulação aquosa, sendo utilizado dimetilsulfóxido (1%) como adjuvante de solubilização foi demonstrada por DAEMON *et al.* (2009), que avaliaram a eficiência desta substância sobre larvas ingurgitadas e não ingurgitadas de *R. sanguineus* e obtiveram 37% de mortalidade para larvas não ingurgitadas na maior concentração testada (2 mg/ml). Esta mesma concentração foi suficiente para causar a morte de 100% das larvas ingurgitadas. Para ninfas ingurgitadas desta mesma espécie de carrapato, MONTEIRO *et al.* (2009) observaram que a concentração de 0,5 mg/ml causou a morte de 100% dos indivíduos, para o teste com fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* a melhor eficácia para controle não ultrapassou 41%.

O timol teve sua eficiência carrapaticida comprovada sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, em que a eficácia foi superior a 95% em todos os tratamentos (1,0; 1,5 e 2,0%) (MONTEIRO *et al.*, 2010). Estudo envolvendo a espécie *A. cajennense* foi conduzido por MENDES *et al.* (2011), que observaram a atividade acaricida sobre larvas ingurgitadas, obtendo mortalidade de 100% em todas as concentrações testadas (2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg/ml). Já para larvas não ingurgitadas o percentual atingiu no máximo de 94% de controle, enquanto nos ensaios com ninfas a concentração de 10,0 mg/ml obteve a taxa de mortalidade de 100%.

Avaliando a atividade carrapaticida da solução etanólica do timol (água destilada + etanol 50%), SCORALIK *et al.* (2012) observaram a ação deletéria sobre larvas de *R. microplus*, onde a menor concentração testada (2,5 mg/ml) teve 94% de controle destes ixodídeos. Utilizando a mesma formulação do timol DAEMON *et al.* (2012a) relataram o efeito acaricida sobre larvas de *R. sanguineus* e *D. nitens*, e observaram mortalidade superior a 90% a partir da segunda maior concentração testada (10,0 mg/ml), sendo que estes autores sugeriram que a potencialização acaricida pode estar relacionada com a formulação etanólica do timol. Esta relação entre a potencialização da atividade carrapaticida e a melhor solubilidade do timol foi observada por DAEMON *et al.* (2012b), que evidenciaram a eficiência da solubilização do timol em etanol quando comparada à formulação aquosa.

O linalol teve sua atividade acaricida empregando o teste descrito por Sutherst *et al.* (1982), revelou que este álcool monoterpênico foi letal em 100% das larvas de *R. microplus* em 15 min. (PRATES *et al.*, 1997). A atividade inseticida do linalol foi evidenciada por YANG *et al.* (2005) que verificaram potente atividade sobre *P. capitis*. O linalol é um dos principais componentes do óleo volátil de *O. basilicum*, conhecido popularmente como

manjeriço. DEL FABBRO & NAZZI (2008) realizaram experimento para identificar os compostos existentes no óleo. Eles investigaram a repelência sobre *I. ricinius*; entretanto, o linalol não demonstrou atividade repelente.

2.4 Fenilpropanóides

Assim como mencionado para o carvacrol, óleos essenciais de plantas que apresentam o timol na sua composição também tiveram atividade carrapaticida. Ao observar a atividade deletéria do óleo de *Lippia sidoides* (Verbenaceae), GOMES *et al.* (2012) atribuíram a ação sobre as larvas de *D. nitens* e larvas e fêmeas de *R. microplus* ao timol, seu componente majoritário.

O *trans*-anetol é o componente majoritário do óleo volátil de *Pimpinella anisum* (ÖZCAN & CHALCHAT, 2006). Segundo TUNÇ & ŞAHINKAYA (1998) o óleo essencial de *P. anisum* se mostrou tóxico para fêmeas do ácaro *Tetranychus cinnabarinus* (Boisd.) e do pulgão *Aphis gossypii* Glover, 1877. Também sobre pulgões, LIMA *et al.* (2008) observaram atividade repelente do *trans*-anetol, a atividade inseticida desta substância foi descrita por SOUTO *et al.* (2011) sobre formigas gênero *Solenopsis*.

O eugenol é encontrado em plantas da família Myrtaceae, como no óleo de cravo, *Syzygium aromaticum*, e em plantas das famílias Lauraceae e Lamiaceae (FRANZ & NOVAK 2009). Esse fenilpropanóide teve seu poder repelente demonstrado por DEL FABBRO & NAZZI (2008) sobre *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758). Eles estudaram a composição química do óleo essencial do Manjeriço (*Ocimum basilicum*), e observaram a atividade do eugenol, um dos componentes majoritários do óleo essencial.

MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* (2011b) verificaram atividade acaricida dos óleos essenciais de *Pimenta dioica* e *O. basilicum* sobre *R. microplus* e atribuíram esse efeito ao metil-eugenol e eugenol presentes no óleo essencial. Em estudo utilizando a substância isolada, MONTEIRO *et al.* (2012) avaliaram a ação deletéria do eugenol e comprovaram a eficácia sobre larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, sendo constatada taxas de mortalidade superior a 99% para *R. microplus* desde a menor concentração (2,5 µl/ml).

Com relação ao (*E*)-cinamaldeído, não foram encontrados estudos sobre sua atividade para carrapatos; entretanto, outras atividades biocidas já foram atribuídas a este monoterpenos; sua ação bactericida foi descrita por ALI *et al.* (2005) que observaram a

inibição do crescimento de *Helicobacter pylori*. Este composto volátil é o constituinte majoritário do óleo de *Cinnamomum zeylanicum* que apresentou atividade ovicida e adulticida contra o piolho humano *Pediculus capitis* (De Geer, 1767) (YANG *et al.*, 2005). Também sobre artrópodes a eficiência do (*E*)-cinamaldeído foi descrita por Lee *et al.*(2008) sobre o coleóptero *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) e por SHEN *et al.* (2012) para o ácaro *Psoroptes cuniculi* (Delafond, 1859).

3 Referências bibliográficas

- ALI, S. M.; KHAN, A. A.; AHMED, I.; MUSADDIQ, M.; AHMED, K. S.; POLASA, H.; RAO, L. V.; HABIBULLAH, C. M.; SECHI, L. A.; AHMED, N. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v4, p.1-7, 2005.
- BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; BARBOSA, C. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, p. 89-96, 2011.
- CETIN. H.; CILEK, J. E.; AYDIN. L.; YANIKOGLU, A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.160, p. 359-361, 2009.
- CETIN, H.; CILEK, J. E.; OZ, E.; AYDIN, L.; DEVECI, O.; YANIKOGLU, A. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and [gamma]-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 170, p. 287-290, 2010.
- CHAGAS, A. C. S.; BARROS, L.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA, M. S.; BIZZO, H. In vitro efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.110, p.295-303, 2012.
- CLEMENTE, M.A.; MONTEIRO, C.M.O.; SCORALIK, M.G.; GOMES, F.T.; PRATA, M. C. A.; DAEMON, E. Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.107, p. 987-992, 2010.
- COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.
- COSKUN, S.; GIRISGIN, O.; KURKCUOGLU, M.; MALYER, H.; GIRISGIN, A.O.; KIRIMER, N.; BASER, K.H. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). **Parasitology Research**, v.103, p. 259-261, 2008.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; ROSA, L. S.; CLEMENTE, M. A.; ARCOVERDE, A. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology** v.105, p.495-497, 2009.
- DAEMON, E.; MATURANO, R.; MONTEIRO, C. M. O.; SCORALIK, M. G.; MASSONI, T. Acaricidal activity of hydroethanolic formulations of thymol against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Veterinary Parasitology**, v.186, p. 542-545, 2012 a.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; SENRA, T. O. S.; CALMON, F.; FAZA, A.; AZEVEDO, P. M. C.; GEORGOPOULOS, S. L.; OLIVEIRA, L. F. C.

Spectroscopic evaluation of thymol dissolved by different methods and influence on acaricidal activity against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.111, p.1901-1906, 2012 b.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v.152,p.173-185, 2008.

DEL FABBRO, S.; NAZZI, F. Repellent effect of sweet basil compounds on *Ixodes ricinus* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v.45, p. 219-228, 2008.

DOLAN, M. C.; JORDAN, R. A.; SCHULZE, T. L.; SCHULZE, C. J.; MANNING, M. C.; RUFFOLO, D.; SCHMIDT, J. P.; PIESMAN, J.; KARCHESY, J. J. Ability of Two Natural Products, Nootkatone and Carvacrol, to Suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme Disease Endemic Area of New Jersey. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p. 2316-2324, 2009.

FERRARINI, S. R.; DUARTE, M. O.; ROSA, R. G.; ROLIM, V.; EIFLER-LIMA, V. L.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. L. S. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and [beta]-amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.157, p. 149-153, 2008.

FRANZ, C & NOVAK, J. **Sources of Essential Oils**. In Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. In: K Hüsniü Can Baser and Gerhard Buchbauer. CRC Press, New York, p.39-81, 2009.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.; PRATA, M. C. A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **A Hora Veterinária**, v.27, p.1-7, 2007.

GOMES, G. A.; MONTEIRO, C. M. O; SENRA, T. O. S.; ZERINGÓTA, V.; CALMON, F.; MATOS, R. S.; DAEMON, E.; GOIS, R.W. S.; SANTIAGO, G. M. P.; CARVALHO, M. G. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.111, p.423-430, 2012.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, p. 8-10, 2002.

GUGLIELMONE, A. A.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R. S.; ESTRADA-PEÑA, A. **Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal**, In: Barros-Battesti, D. M., Arzua, M., Bechara, G. H. (Eds.) Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, p. 115-138, 2006.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. Plêiade/FAPESP, São Paulo, p. 218, 2001.

- JORDAN, R. A.; SCHULZE, T. L.; DOLAN, M. C. Efficacy of Plant-Derived and Synthetic Compounds on Clothing as Repellents Against *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.49, p. 101-106, 2012.
- KAAYA, G. P.; MWANGI, E. N.; OUNA, E. A. Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.67, p. 15-20, 1996.
- KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. **Biopesticide international**, v.4, p. 63-84, 2008.
- LABRUNA, M. B. BIOLOGICA-ECOLOGIA DE *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.123-124, 2004.
- LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. **Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical**. In: Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH (eds) Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 155-164, 2006.
- LEE, E. J.; KIM, J. R.; CHOI, D. R.; AHN, Y. J. Toxicity of cassia e cinnamon oil compounds and cinnamaldehyde-related compounds to *Sitophilusoryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.101, p.1960-1966, 2008.
- LETIZIA, C. S.; COCCHIARA, J.; LALKO, J.; API, A. M. Fragrance material review on linalool. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 943-964, 2003.
- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; VIEIRA, S. S.; MELO, B. A.; FILGUEIRAS, C. C. Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do Efeito Repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae). **BioAssay**, v. 3, p.1-6, 2008.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G. A.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; LOPEZ-RAMIREZ, J.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; LUGO-CERVANTES, E. DEL C. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales:Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.48, p. 822-827, 2011a.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J.; LOPEZ-RAMIREZ, J.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; LUGO-CERVANTES, E.C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:Ixodidae). **Parasitology Research**, v.108, p. 481-487, 2011b.
- MARTINS, J. R.; MEDRI, I. M.; OLIVEIRA, C. M.; GUGLIELMONE, A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduámirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, p. 293-295, 2004.

MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. **Controle de carrapatos**. In: BARROS-BATTESTI, D. M. B.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Org.). Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies. São Paulo: Instituto Butantan, p.145-153, 2006.

MENDES, A. S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; BRITO, F. C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.183, p. 136-139, 2011.

MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M. A.; ROSA, L. S.; MATURANO, R. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.105, p.1093-1097, 2009.

MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; SILVA, A. M. R.; MATURANO, R.; AMARAL, C. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.106, p. 615-619, 2010.

MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; DAEMON, E.; CATUNDA-JUNIOR, F. E. A.; CALMON, F.; SENRA, T. O. S.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research**, v.111, p.1295-1300, 2012.

NA, Y. E.; KIM, S.; BANG, H.; KIM, B.; AHN, Y. Fumigant toxicity of cassia and cinnamon oils and cinnamaldehyde and structurally related compounds to *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v.178, p.324–329, 2011.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p. 700-704, 2007a.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Evaluation of the acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid, and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research**, v.101, p.809-811, 2007 a.

OZCAN, M.; CHALCHAT, J. C. Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum L.*) fruit oil at ripening stage. **Annals of Microbiology**, v.56, p.353–358, 2006.

PEREIRA, M. C. Introdução, In: Pereira, M.C., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J., Klafke, G.M. (Eds.) ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência***. MedVet, São Paulo, p. 1-5, 2008.

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 Ciência Veterinária**, v. 3, p. 55-57, 1996.

PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A.; OLIVEIRA A. B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.)

and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, p.193-197, 1998.

REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B. J. R. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. **Pharmaceutical Biology**, v.46, p.41-52, 2008.

SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, v.110, p. 645-648, 2012.

SHEN, F.; XING, M.; LIU, L.; TANG, X.; WANG, W.; WANG, X.; WU, X.; WANG, X.; WANG, X.; WANG, G.; ZHANG, J.; LI L.; ZHANG, J.; YU L. Efficacy of trans-cinnamaldehyde against *Psoroptes cuniculi* in vitro. **Parasitology Research**, v.110, p.1321-1326, 2012

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M., OLIVEIRA FILHO, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, p.46-49, 2004.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y. ; MAIA, J. G. S. Estudos preliminares da atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de *Piper* linneus (piperaceae) em operárias de *f* Smith (Hymenoptera: formicidae), em laboratório. **Biota Amazônica**, v. 1, p.42-48, 2011.

SOUZA, C.E.; CALLE, S.B.; CAMARGO, M. C. G. O. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 203-204, 2004.

SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, p. 295-320, 1982.

TUNÇ, I & ŞAHINKAYA, Ş. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.86, p. 183-187,1998.

YANG, Y. C.; LEE, H. S.; LEE, S. H.; CLARK, J. M., AHN, Y. J. Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **International Journal for Parasitology**, v.35, p. 1595-1600, 2005.

ZENG, W.C.; ZHU, R.X.; JIA, L.R.; GAO, H.; ZHENG, Y.; SUN, Q. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Gnaphlium affine*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p.1322-1328, 2011.

4 Avaliação da atividade acaricida do carvacrol, (*E*)-cinamaldeído, *trans*-anetol e linalol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae).

4.1 Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade carrapaticida do carvacrol, (*E*)-cinamaldeído, *trans*-anetol e linalol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*. Todas as substâncias foram testadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml, sendo feitas 10 repetições por tratamento. O teste foi realizado através da técnica de pacote de larvas modificado e a mortalidade foi avaliada após 24h. Nos grupos tratados com carvacrol, a menor concentração (2,5 µl/ml) foi suficiente para causar a morte de 100% das larvas de *R. microplus* e *D. nitens*. A mesma concentração de (*E*)-cinamaldeído resultou em morte de aproximadamente 99% das larvas de ambas as espécies, chegando a 100% nas demais concentrações. Em relação ao *trans*-anetol, mortalidades acima de 90% das larvas de *R. microplus* e *D. nitens* só foram observadas a partir da concentração de 15,0 µl/ml, chegando a 100% na maior concentração (20,0 µl/ml). As taxas de mortalidade para os grupos tratados com linalol foram baixas, chegando a 8,4 e 14,5% na maior concentração (20,0 µl/ml) para larvas de *D. nitens* e *R. microplus*, respectivamente. No presente estudo foi possível concluir que o carvacrol, (*E*)-cinamaldeído e *trans*-anetol apresentaram atividade carrapaticida. Destes resultados pode-se destacar que o carvacrol e (*E*)-cinamaldeído que, mesmo nas menores concentrações, resultaram em elevadas taxas de mortalidade para esses ixodídeos.

Palavras-chave: carrapato da orelha do cavalo, carrapato do boi, fenilpropanóides, monoterpreno.

4.2 Introdução

Rhipicephalus microplus (Canestrini, 1888) é um ectoparasito de bovinos com grande importância econômica nos países tropicais e subtropicais (PEREIRA, 2008). Os encargos financeiros causados por este carrapato às criações de gado referentes ao controle, somado os prejuízos causados aos hospedeiros (perda de peso, diminuição da produção de leite e desvalorização do couro) chegam a dois bilhões de dólares anuais no Brasil (GRISI *et al.*, 2002). *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) conhecido popularmente como carrapato da orelha do cavalo, localiza-se principalmente no pavilhão auricular e divertículo nasal dos equinos (GUIMARÃES *et al.*, 2001). Este ixodídeo possui grande importância médico-veterinária, causando espoliação sanguínea, estresse, transmissão de agentes infecciosos, predisposição a miíases e infecções bacterianas secundárias em seus hospedeiros (GUGLIELMONE *et al.*, 2006; LABRUNA & MACHADO, 2006).

Os carrapaticidas sintéticos têm sido utilizados como forma predominante no controle destes ectoparasitos. Entretanto, a utilização indiscriminada e sem critérios técnicos tem levado a seleção de populações de *R. microplus* resistentes as principais bases químicas disponíveis no mercado (FURLONG *et al.*, 2007). Embora ainda não se tenha relatos de populações de *D. nitens* resistentes a carrapaticidas, torna-se pertinente o desenvolvimento de novas estratégias de controle deste ixodídeo (CLEMENTE *et al.*, 2010), minimizando a utilização de produtos químicos que podem promover riscos de intoxicação dos animais, do homem e contaminação do ambiente (KOUL *et al.*, 2008). Os metabolitos especiais biossintetizados pelas plantas exercem funções biológicas nos vegetais, dentre elas a defesa contra microrganismos e insetos (SIMAS *et al.*, 2004). Estas propriedades tornam as plantas fonte de agentes biocidas podendo não proporcionar os danos de intoxicação ambiental.

Estudos recentes têm dado atenção especial aos produtos de origem vegetal com propriedades biocidas para serem utilizados no controle de pragas (REGNAULT-ROGER & PHILOGENE, 2008). Além de estudos com óleos essenciais e extratos vegetais, pesquisas também têm demonstrado que determinados compostos voláteis que compõem os óleos possuem atividade carrapaticida sobre diferentes espécies e estágios de carrapatos (FERRARINI *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011; CHAGAS *et al.*, 2012; SCORALIK *et al.*, 2012). Considerando as propriedades dessas classes de substâncias naturais e estudos existentes que comprovam atividades dos monoterpenos, carvacrol e linalol, e dos fenilpropanóides, (*E*)-cinamaldeído e *trans*-anetol (Figura 1) como antioxidante,

antimicrobiana, acaricida, repelente e/ou inseticida (LETIZIA *et al.*, 2003; ALI *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2008; DOLAN *et al.*, 2009; CETIN *et al.*, 2010; SOUTO *et al.*, 2011; ZENG *et al.*, 2011; NA *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2005), elegeram-se essas substâncias para teste sobre *R. microplus* e *D. nitens*. Desta forma o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade carrapaticida dessas substâncias sobre lavras desses ixodídeos.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Obtenção dos carrapatos e realização dos experimentos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Para obtenção das larvas de *D. nitens*, fêmeas ingurgitadas foram coletadas de equinos sem contato recente com carrapaticidas, no município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. Em relação ao teste com *R. microplus*, foram utilizadas larvas da colônia mantida através de infestações artificiais em bezerros na fazenda experimental da Embrapa Gado de Leite, localizada no município de Coronel Pacheco, MG, Brasil.

Após a obtenção, as fêmeas foram levadas para o laboratório, onde foram lavadas em água destilada, secas em papel toalha, colocadas em placas de Petri e acondicionadas em câmara climatizada ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\%$) para a realização de postura. Após 15 dias do início da postura, os ovos foram pesados em alíquotas de 200 mg, acondicionados em seringas plásticas com extremidade distal cortada, vedadas com algodão hidrófilo e mantidas nas mesmas condições de temperatura e umidade mencionadas anteriormente. As larvas submetidas aos testes tinham entre 15 a 21 dias de idade.

4.3.2 Bioensaio - Avaliação da atividade acaricida das substâncias testadas sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*.

Foram testadas as substâncias carvacrol (98%), linalol (95%), (*E*)-cinamaldeído (93%, configuração definida por análise de RMN ^1H) e trans-anetol (99%) obtidas da empresa Sigma-Aldrich[®] (São Paulo-SP, Brasil) (Figura 1). Foi utilizado o etanol como solvente, uma vez que essa substância em pureza analítica não apresenta toxicidade para larvas de *R. microplus* e *D. nitens* (CHAGAS *et al.*, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2007; RESENDE *et al.*, 2012). Para solubilização do carvacrol, (*E*)-cinamaldeído, trans-anetol e linalol, o solvente foi utilizado nas concentrações de 50, 70, 80 e 70%, respectivamente, devido a características inerentes à cada substância; sendo testadas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 $\mu\text{l/ml}$ para cada uma delas.

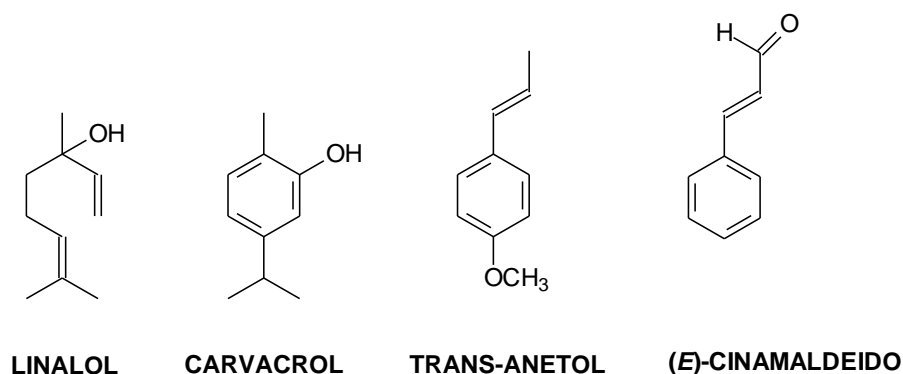


Figura 1. Estruturas dos terpenóides e fenilpropanóides submetidos a teste de atividade acaricida frente as larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*.

Foi utilizado o teste de pacote de larvas (STONE & HAYDOC 1962) modificado, em que aproximadamente 100 larvas com idade entre 15 e 21 dias, foram colocadas no centro de papel de filtro com dimensões de 6x6 cm e na sequência esses papéis foram dobrados ao meio e tiveram as bordas vedadas por cliques. Posteriormente, cada lado externo do papel de filtro foi umedecido homogeneamente com 90 μl das soluções a serem testadas. No grupo controle as larvas foram tratadas com o solvente nas diferentes concentrações utilizadas para solubilização de cada substância e foram feitas 10 repetições por grupo (controle e tratamentos).

Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\%$) e após 24h, foi feita a avaliação da mortalidade, onde as larvas vivas e mortas foram quantificadas com utilização de bomba a vácuo acoplada em uma mangueira de borracha com uma ponteira adaptada na extremidade. A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula: $\text{Mortalidade (\%)} = (\text{total de larvas mortas} / \text{total de larvas}) \times 100$.

4.3.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$ e analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p<0,05$). No caso de distribuição não paramétrica, os valores foram comparados através dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls ($p<0,05$).

4.4 Resultados

A mortalidade de larvas de *R. microplus* (Tabela 1) tratadas com carvacrol foi de 100% em todos os grupos tratados. Para o (*E*)-cinamaldeído, a concentração de 2,5 $\mu\text{l/ml}$ resultou em mortalidade de 99,2%, chegando a 100% nas outras concentrações, sendo constatadas diferenças significativas ($p<0,05$) entre todos os grupos tratados e o controle. No teste com trans-anetol as concentrações a partir de 5.0 $\mu\text{l/ml}$ resultaram mortalidade superior a 70%, diferindo significativamente ($p<0,05$) do controle, sendo que na concentração de 20,0 $\mu\text{l/ml}$ a mortalidade foi de 100%. Com relação ao teste com linalol, a mortalidade foi baixa, não ultrapassando a taxa de 14% na maior concentração.

Tabela 1. Mortalidade de larvas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações de linalol, *trans*-anetol, carvacrol e (*E*)-cinamaldeído em formulação etanólica sob condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	(<i>E</i>)-cinamaldeído	<i>Trans</i> -anetol	Linalol
Controle	0,0 ^a ± 0,0*	0,0 ^a ± 0,0 ⁺	0,0 ^a ± 0,0 [#]	0,0 ^a ± 0,0 ⁺
2,5 µl/ml	100,0 ^{bA} ± 0,0	99,2 ^{bA} ± 1,75	0,0 ^{ab} ± 0,0	2,2 ^{aB} ± 4,09
5,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ± 0,0	100,0 ^{bA} ± 0,0	73,4 ^{bb} ± 24,4	2,08 ^{aC} ± 3,08
10,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ± 0,0	100,0 ^{bA} ± 0,0	71,8 ^{bb} ± 26,9	8,82 ^{aC} ± 6,88
15,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ± 0,0	100,0 ^{bA} ± 0,0	95,9 ^{bcA} ± 4,5	12,57 ^{bb} ± 10,90
20,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ± 0,0	100,0 ^{bA} ± 0,0	100,0 ^{cA} ± 0,0	14,5 ^{bb} ± 9,0

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); # Grupo controle: água (20%) + etanol (80%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%).

Em relação aos testes com larvas de *D. nitens* (Tabela 2), foi possível observar que o carvacrol na concentração de 2,5 µl/ml foi suficiente para causar a morte de 100% das larvas, assim como observado no teste com larvas de *R. microplus*. Resultado semelhante também foi encontrado em relação ao (*E*)-cinamaldeído sobre larvas de *D. nitens*, onde a menor concentração (2,5 µl/ml) levou à morte de 98%. Nos demais tratamentos a taxa de mortalidade foi de 100% todos os grupos tratados com essa substância apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) em relação ao controle. O *trans*-anetol, nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0 e 15,0 µl/ml causou mortalidade de 7,3%, 12%, 52,3 e 91% respectivamente, atingindo 100% de mortalidade na maior concentração. Os grupos tratados com linalol, nas concentrações de 2,5; 5,0 e 10,0 µl/ml apresentaram mortalidade inferior a 2%, não diferindo significativamente ($p<0,05$) do grupo controle; nas maiores concentrações houve mortalidade de 4,7% e 8,4% respectivamente.

Tabela 2. Mortalidade de larvas de *Dermacentor nitens* tratados com diferentes concentrações de linalol, *trans*-anetol, carvacrol e (*E*)-cinamaldeído em formulação etanólica sob condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	(<i>E</i>)-cinamaldeído	<i>Trans</i> -anetol	Linalol
Controle	0,0 ^a ±0,0*	0,0 ^a ±0,0 ⁺	0,0 ^{aA} ±0,0 [#]	0,0 ^{aA} ±0,0 ⁺
2,5 µl/ml	100,0 ^{bA} ±0,0	98,5 ^{bA} ±3,3	7,3 ^{abB} ±6,7	1,0 ^{aB} ±1,7
5,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ±0,0	100,0 ^{bA} ±0,0	12,0 ^{bcB} ±14,1	1,3 ^{aB} ±1,8
10,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ±0,0	100,0 ^{bA} ±0,0	52,3 ^{cb} ±28,8	1,7 ^{abC} ±1,9
15,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ±0,0	100,0 ^{bA} ±0,0	91,5 ^{cdA} ±1,7	4,7 ^{bcB} ±3,4
20,0 µl/ml	100,0 ^{bA} ±0,0	100,0 ^{bA} ±0,0	100,0 ^{dA} ±0,0	8,4 ^{bB} ±4,3

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); # Grupo controle: água (20%) + etanol (80%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%).

Comparando as substâncias é possível observar o melhor desempenho do carvacrol e (*E*)-cinamaldeído nas menores concentrações (2,5; 5,0; 10,0 µl/ml), uma vez que a mortalidade ocasionada por essas substâncias foi significativamente superior ($p<0,05$) às demais (Tabela 2). Entretanto, tais diferenças ($p>0,05$) não foram observadas quando foram comparadas as taxas de mortalidade dos grupos tratados com carvacrol e (*E*)-cinamaldeído nas maiores concentrações (15,0 e 20,0 µl/ml) e os grupos tratados com *trans*-anetol nas mesmas concentrações (Tabela 1 e 2).

4.5 Discussão

A partir da identificação de componentes majoritários existentes em óleos essenciais de plantas, é possível verificar a atividade dessas substâncias isoladas sobre diferentes organismos (COMBRINK *et al.*, 2011). Estudos *in vitro* são essenciais para eleição de substâncias com atividade acaricida uma vez que, algumas substâncias de origem vegetal têm diferentes graus de eficiência para diferentes espécies e estágios de carrapatos (FERRARINI *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011; CHAGAS *et al.*, 2012; SCORALIK *et al.*, 2012).

YANG *et al.* (2005) verificaram potente atividade inseticida de linalol frente a *Pediculus humanus capitis* De Geer, 1767 (Anoplura: Pediculidae). Estudo de atividade

acaricida empregando o teste descrito por Sutherst *et al.* (1982), revelou que este álcool monoterpênico foi letal em 100% das larvas de *R. microplus* em 15 min. (PRATES *et al.*, 1997). Entretanto, no presente trabalho, utilizando a metodologia de pacote de larvas modificado essa substância apresentou baixo poder acaricida sobre as larvas de *R. microplus* e *D. nitens*. Linalol é o constituinte majoritário do óleo volátil de *Ocimum basilicum*, conhecido popularmente como manjerição. MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* (2011a) relataram que este óleo não apresentou toxicidade sobre larvas de *R. microplus*. Embora a ação deletéria do linalol sobre estas larvas seja insuficiente para considerá-lo como um princípio ativo promissor no controle destes parasitos, suas propriedades merecem novos estudos devido a outras peculiaridades da substância. Segundo LETIZIA *et al.* (2003) o linalol possui a capacidade de facilitar a penetração de outras drogas em peles e membranas. Deste modo, este composto pode ser um adjuvante a um produto carrapaticida, carreando o ingrediente ativo pela cutícula do carrapato potencializando sua ação, uma vez que a esclerotização do tegumento, além de fornecer proteção para evitar a perda de água, funciona como barreira natural contra carrapaticidas de contato (HACKMAN, 1982; HACKMAN & FILSHIE, 1982).

O *trans*-anetol demonstrou eficiência acaricida para ambas as espécies, atingindo 100% de mortalidade na concentração de 20,0 µl/ml, sendo essa molécula caracterizada por apresentar mais essa propriedade bioativa, que vem somar-se a outras já descritas como repelência sobre pulgões (LIMA *et al.*, 2008) e inseticida sobre formigas do gênero *Solenopsis* (SOUTO *et al.*, 2011). Entretanto, apesar de ter apresentado atividade sobre larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, cabe destacar que mortalidade superior a 90% só foi obtida a partir das duas maiores concentrações de *trans*-anetol testadas. O óleo volátil de *Pimpinella anisum* tem este fenilpropanóide como componente mais abundante (ÖZCAN & CHALCHAT, 2006). TUNÇ & ŞAHINKAYA (1998) observaram que o óleo de *P. anisum* foi tóxico para as fêmeas do ácaro *Tetranychus cinnabarinus* (Boisd.) e do pulgão *Aphis gossypii* Glover, 1877.

Os resultados do presente estudo evidenciaram que o carvacrol e (*E*)-cinamaldeído foram as duas substância que apresentaram maior atividade sobre larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, uma vez que foi observada altas taxas de mortalidade (>95%) a partir da menor concentração (2,5 µl/ml). Na literatura é possível encontrar estudos que comprovam a atividade acaricida, bactericida, fungicida e inseticida do carvacrol e (*E*)-cinamaldeído em diferentes espécies, devido às propriedades químicas e estruturais que as compõem (ALI *et al.*, 2005; CETIN *et al.*, 2010; NA *et al.*, 2011; PAVELA, 2011). Neste sentido, PERRUCCI *et al.* (1995) consideraram que a presença de fenóis livres na estrutura confere maior atividade

acaricida, como no caso do carvacrol e seu isômero timol. Este último, na concentração de 10 mg/ml em formulação etanólica (água destilada + álcool 50%), apresentou mortalidade de 99,9% para *R. microplus* (SCORALIK *et al.*, 2012). Trabalhos sobre a atividade do (*E*)-cinamaldeído em carrapatos são escassos, entretanto, sua atividade já foi demonstrada contra outros artrópodes como demonstrado por LEE *et al.* (2008) sobre o coleóptero *Sitophilus oryzae* Linnê, 1763 e por SHEN *et al.* (2012) para o ácaro *Psoroptes cuniculi* Delafon, 1859. Este composto volátil é o constituinte majoritário do óleo de *Cinnamomum zeylanicum* que apresentou atividade ovicida e adulticida contra o piolho humano *P. h. capitis* (YANG *et al.*, 2005).

Com relação ao carvacrol existem alguns estudos que demonstraram que óleos essenciais ricos nesse monoterpene possuem atividade sobre carrapatos. CETIN *et al.* (2009) relataram que o óleo de *Origanum minutiflorum* teve atividade sobre *Rhipicephalus turanicus* Pomerantzev, 1940 no qual o carvacrol foi o constituinte majoritário. O mesmo foi observado por MARTINEZ-VELAZQUEZ (2011b) que testou o óleo de *Lippia graveolens* sobre larvas de *R. microplus*. A atividade carrapaticida do carvacrol isolado também já foi demonstrada por CETIN *et al.* (2010), que testaram esse monoterpene sobre *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 e verificaram alta mortalidades dos adultos. DOLAN *et al.* (2009) verificaram em campo que o carvacrol suprimiu populações de *Amblyomma americanum* Linnaeus, 1758 e *Ixodes scapularis* Say, 1821 após a aspersão na concentração de 5% sobre a vegetação, e no presente estudo mostrou-se eficiente contra larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, sendo a mais potente entre as quatro substâncias testadas, uma vez que a menor concentração levou a mortalidade de 100% das larvas. Com base nos resultados observados no presente trabalho é possível sugerir que o mesmo método de controle possa ser empregado diretamente sobre os hospedeiros como também sobre pastagens, visando o controle dessas espécies. Tal prática poderia ser utilizada no manejo integrado de carrapatos, sendo utilizada em conjunto com outras estratégias de controle minimizando a aplicação de carrapaticidas químicos sintéticos.

O conjunto de resultados obtidos no presente estudo indica que o carvacrol, (*E*)-cinamaldeído e *trans*-anetol possuem atividade carrapaticida sobre *R. microplus* e *D. nitens*, com destaque para as duas primeiras substâncias. Assim, existe a necessidade de pesquisas envolvendo outros estágios de desenvolvimento desses carrapatos e testes em condições naturais.

4.6 Referências bibliográficas

ALI, S. M.; KHAN, A. A.; AHMED, I.; MUSADDIQ, M.; AHMED, K. S.; POLASA, H.; RAO, L. V.; HABIBULLAH, C. M.; SECHI, L. A.; AHMED, N. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v4, p.1-7, 2005.

CETIN, H.; CILEK, J. E.; AYDIN, L.; YANIKOGLU, A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.160, p. 359-361, 2009.

CETIN, H.; CILEK, J. E.; OZ, E.; AYDIN, L.; DEVECI, O.; YANIKOGLU, A. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and [gamma]-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.170, p. 287-290, 2010.

CHAGAS, A. C. S.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; PRATES, H. T., PASSOS, W. M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, v. 33, p.109-114,2003

CHAGAS, A. C. S.; BARROS, L.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA, M. S.; BIZZO, H. In vitro efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.110, p.295-303, 2012.

CLEMENTE, M. A.; MONTEIRO, C. M. O.; SCORALIK, M. G.; GOMES, F. T.; PRATA, M. C. A.; DAEMON, E. Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.107, p. 987-992, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, p. 344-349, 2011.

DOLAN, M. C.; JORDAN, R. A.; SCHULZE, T. L.; SCHULZE, C. J.; MANNING, M. C.; RUFFOLO, D.; SCHMIDT, J. P.; PIESMAN, J.; KARCHESY, J. J. Ability of Two Natural Products, Nootkatone and Carvacrol, to Suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme Disease Endemic Area of New Jersey. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p. 2316-2324, 2009.

FERRARINI, S. R.; DUARTE, M. O.; ROSA, R. G.; ROLIM, V.; EIFLER-LIMA, V. L.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. L. S. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and [beta]-amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.149-153, 2008.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R.; PRATA, M. C. A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **A Hora Veterinária**, v. 27, p. 1-7, 2007.

GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; ASCOLI, B.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. Effects of solvents and surfactant agents on the female and larvae of cattle tick *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v.100, p. 1267-1270, 2007.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, p. 8-10, 2002.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. Plêiade/FAPESP, São Paulo, p.218,2001.

GUGLIELMONE, A. A.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R. S.; ESTRADA-PEÑA, A. **Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal**, In: BARROS-BATTESTI, D. M., ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Eds.) Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, p. 115-138, 2006.

HACKMAN, R.H. Structure and function in tick cuticle. **Annual Review of Entomology**, v. 27, p.75-95, 1982

HACKMAN, R. H.; FILSHIE, B. K. **The tick cuticle**, In: ODHIAMBO, T. R. (Ed) Physiology of ticks. Current Themes in Tropical Science, Nairobi, p. 1-43, 1982.

KOUL, O., WALIA, S., DHALIWAL, G. S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. **Biopesticide international**, v.4, p. 63-84, 2008.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. **Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical**. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Eds.) Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, p. 155-164, 2006.

LETIZIA, C. S.; COCCHIARA, J.; LALKO, J.; API, A. M. Fragrance material review on linalool. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 943-964, 2003.

LEE, E. J.; KIM, J. R.; CHOI, D. R.; AHN, Y. J. Toxicity of cassia e cinnamon oil compounds and cinnamaldehyde-related compounds to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.101, p.1960-1966, 2008.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; VIEIRA, S. S.; MELO, B. A.; FILGUEIRAS, C. C. Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do Efeito repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**, v. 3, p.1-6, 2008.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G. A.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; LOPEZ-RAMIREZ, J.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R., LUGO-CERVANTES, E. DEL. C. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales:Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.48, p.822-827, 2011a.

- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J.; LOPEZ-RAMIREZ, J.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; LUGO-CERVANTES, E.C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.108, p. 481-487, 2011b.
- MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M. A.; ROSA, L. S.; MATURANO, R. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.105, p. 1093-1097, 2009.
- NA, Y. E.; KIM, S.; BANG, H.; KIM, B.; AHN, Y. Fumigant toxicity of cassia and cinnamon oils and cinnamaldehyde and structurally related compounds to *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v.178, p.324-329, 2011.
- PEREIRA, M. C. Introdução, *In*: PEREIRA, M. C., LABRUNA, M. B., SZABÓ, M. P. J., KLAFKE, G. M. (Eds.) ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência***. MedVet, São Paulo, p. 1-5, 2008.
- OZCAN, M.; CHALCHAT, J.C. (2006) Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum L.*) fruit oil at ripening stage. **Annals of Microbiology** 56:353–358.
- PAVELA, R. Insecticidal properties of phenols on *Culex quinquefasciatus* Say and *Musca domestica L.* **Parasitology Research**, v.109, p.1547-1553, 2011.
- PERRUCCI, S.; MACCHIONI, G.; CIONI, P. L.; FLAMINI, G.; MORELLI, I. Structure/activity relationship of some natural monoterpenes as acaricides against *Psoroptes cuniculi*. **Journal of Natural Products**, v.8, p.1261-1264, 1995.
- PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A.; OLIVEIRA A. B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.9, p.93-197, 1998.
- REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B. J. R. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. **Pharmaceutical Biology**, v.46, p. 41-52, 2008.
- RESENDE, J. D. S. A.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; PRATA, M. C. A.; RODRIGUES, A. F. S. F. Toxicity of solvents and surfactants to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897)(Acari: Ixodidae) larvae. **Experimental Parasitology**, v.131, p.139-142, 2012.
- SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, v.110, p.645-648, 2012.
- SHEN, F.; XING, M.; LIU, L.; TANG, X.; WANG, W.; WANG, X.; WU, X.; WANG, X.; WANG, X.; WANG, G.; ZHANG, J.; LI, L.; ZHANG, J.; YU, L. Efficacy of trans-

cinnamaldehyde against *Psoroptes cuniculi* *in vitro*. **Parasitology Research**, v.110:1321-1326, 2012.

MENDES, A. S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; BRITO, F. C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.183, p.136-139, 2011.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M., OLIVEIRA FILHO, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y. ; MAIA, J. G. S. Estudos preliminares da atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de *Piper* linneus (piperaceae) em operárias de *f* Smith (Hymenoptera: formicidae), em laboratório. **Biota Amazônica**, v.1, p.42-48, 2011.

STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Canestrini.). **Bulletin of Entomological Research**, v.53, p. 563-578, 1962.

SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, p. 295:320, 1982.

TUNÇ, I.; ŞAHINKAYA, Ş. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.86, p.183-187, 1998.

YANG, Y. C.; LEE, H. S.; LEE, S. H.; CLARK, J. M., AHN, Y. J. Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **International Journal for Parasitology**, v.35, p. 1595-1600, 2005.

ZENG, W. C.; ZHU, R. X.; JIA, L. R.; GAO, H.; ZHENG, Y.; SUN, Q. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Gnaphlium affine*. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, p. 1322-1328, 2011.

5 Atividade carrapaticida do carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae).

5.1 Resumo

O presente estudo foi realizado com intuito de verificar a atividade acaricida de formulações hidroetanólicas do carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em diferentes concentrações sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense*. Para realização do experimento foi empregado o teste de pacote de larvas modificado. Todas as substâncias foram testadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml, com exceção do timol que foi testado nas mesmas concentrações em mg/ml; sendo feitas 10 repetições para cada tratamento. Também foi estabelecido um grupo controle com etanol na concentração necessária para solubilizar cada substância. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80±10%) por 24 horas e após este período, a mortalidade foi avaliada. Nos testes realizados com larvas de *R. sanguineus*, os grupos tratados com a menor concentração de carvacrol e (*E*)-cinamaldeído apresentaram mortalidade de 100%, entretanto, para o eugenol, esse percentual só foi observado a partir da concentração de 10,0 µl/ml. Para ninfas desse mesmo ixodídeo, os monoterpenos carvacrol e timol a partir da menor concentração (2,5 µl/ml ou mg/ml) causaram letalidade de 100% em todas as concentrações, diferindo dos resultados obtidos para o eugenol e (*E*)-cinamaldeído, uma vez que mortalidade de 100% com a utilização dessas substância só foram observadas a partir da de 10,0 µl/ml. Nos testes com *A. cajennense* a mortalidade das larvas tratadas com carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído na concentração de 2,5 µl/ml foi de 45, 62,7, 10,2 e 81,6%, chegando a 100% na concentração de 5,0 µl/ml para o carvacrol, timol e (*E*)-cinamaldeído. Para o eugenol esta mortalidade foi observada na concentração de 15,0 µl/ml. Para ninfas os testes com carvacrol e timol causaram a morte de 100% dos indivíduos a partir das concentrações de 5,0 µl/ml e 10,0 mg/ml, respectivamente; o eugenol só atingiu mortalidade de 100% na concentração de 20,0 µl/ml, enquanto a mortalidade máxima no (*E*)-cinamaldeído não ultrapassou 64%. Os resultados observados no presente estudo indicam que as substâncias testadas apresentam atividade acaricida sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*.

Palavras-chave: Monoterpenos, fenilpropanóides, carrapato vermelho do cão, carrapato estrela.

5.2 Introdução

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787), popularmente conhecido como “carrapato estrela”, tem como hospedeiro preferencial cavalos e capivaras; entretanto, devido à baixa especificidade parasitária, principalmente dos estágios imaturos, esse ixodídeo também pode ser encontrado parasitando outros animais como cervos, bovinos, roedores, canídeos e aves (GUIMARÃES *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2004). Este ectoparasito possui grande importância do ponto de vista da saúde pública e econômico-zootécnico nos sistemas de exploração animal. As infestações por este carrapato ocasionam perdas econômicas importantes, em decorrência da queda de produtividade dos animais e dos gastos com o uso de produtos carrapaticidas (PRATA *et al.*, 1996).

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) é considerado um dos principais ectoparasitos de cães no Brasil, representando uma cifra considerável no faturamento da linha veterinária das indústrias farmacêuticas (LABRUNA, 2004). Este ectoparasito é responsável pela transmissão de agentes patogênicos aos seus hospedeiros, sendo também importante do ponto de vista zoonótico, sendo vetor de agentes patogênicos para o homem (DANTAS-TORRES, 2008; LABRUNA & MACHADO 2006).

O controle destes ectoparasitos é feito predominantemente por carrapaticidas, mas a utilização indiscriminada e sem critérios técnicos tem causado prejuízos, como a intoxicação de homens e animais e a seleção de carrapatos resistentes (KAAYA *et al.*, 1996; BORGES *et al.*, 2011). A utilização de substâncias de origem vegetal é uma alternativa promissora, pois pode representar uma forma mais segura para o controle desses parasitos, diminuindo os riscos de contaminação ambiental e intoxicação dos animais e do homem (KOUL *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2011).

Existem plantas que apresentam atividade repelente contra insetos herbívoros, esta atividade é realizada por componentes presentes nos óleos essenciais, produzidos pelo metabolismo secundário das mesmas (SIMAS *et al.*, 2004). A atividade dos óleos essenciais, assim como seus componentes majoritários, tem sido investigada, e algumas dessas

substâncias foram apontadas como promissoras no combate de bactérias, insetos e ácaros (LEE *et al.* , 2008; ALI *et al.* , 2005; POZZO *et al.*, 2011; SHEN *et al.*, 2012). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade carrapaticida dos monoterpênicos carvacrol e timol e dos fenilpropanóides (*E*)-cinamaldeído e eugenol sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense* e *R. sanguineus*.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Obtenção dos carrapatos e realização dos experimentos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As larvas e ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* utilizadas nos experimentos foram oriundas de colônia mantida através de infestações artificiais em coelhos *Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758 (mestiços - Califórnia × Nova Zelândia), de acordo com a metodologia proposta por NEITZ *et al.* (1971). As larvas submetidas aos testes tinham entre 15 a 21 dias de idade; já as ninfas foram submetidas aos testes 15 dias após a ecdise.

As substâncias carvacrol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído testadas foram adquiridas da empresa Sigma-Aldrich® com grau de pureza de 99,9%. Os cristais de timol foram obtidos por intermédio da empresa Henrifarma Químicos e Farmacêuticos LTDA.

Para solubilização do carvacrol, timol, eugenol foi utilizado etanol na concentração de 50% e para (*E*)-cinamaldeído a concentração foi de 70%, devido a características inerentes à cada substância. As substâncias carvacrol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em todos os experimentos foram testadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml, enquanto o timol foi testado nas mesmas concentrações em mg/ml.

5.3.2 Bioensaio - Testes com larvas e ninfas não ingurgitadas

Para larvas, foi utilizado o teste de pacote (STONE & HAYDOC 1962) modificado por MONTEIRO *et al.* (2012), em que aproximadamente 100 larvas foram colocadas em papel filtro com dimensões de 6x6 cm (Figura 2); na sequência, estes papéis foram dobrados ao meio e tiveram suas extremidades vedadas por clips. Posteriormente, cada lado externo do papel de filtro foi umedecido homogeneamente com 90 μ l das soluções a serem testadas. No grupo controle as larvas foram tratadas com o solvente nas diferentes concentrações utilizadas para solubilização de cada substância. Foram feitas 10 repetições por grupo (controle e tratamentos). Para os testes com ninfas não ingurgitadas (Figura 3) foi utilizada a mesma metodologia, sendo colocadas cinco ninfas em cada pacote.

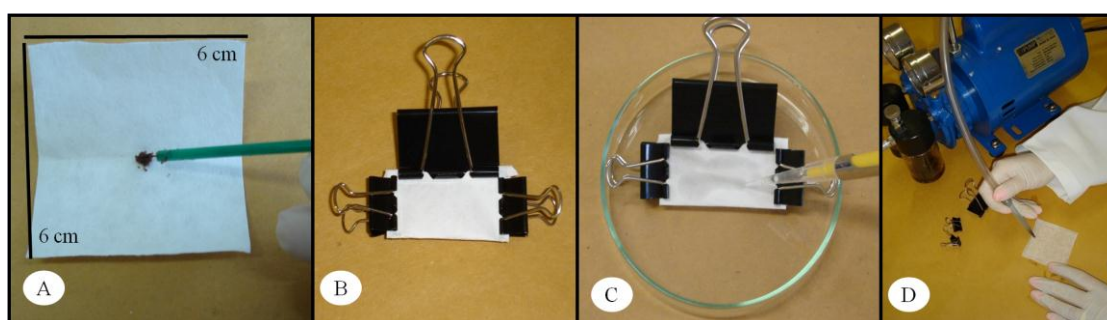


Figura 2. Teste de pacote de larvas (A) onde aproximadamente 100 larvas foram colocadas no interior de papéis de filtro (6x6cm), esses foram dobrados ao meio e as extremidades vedadas com clips (B). Após o fechamento, com a utilização de pipeta cada lado externo do envelope foi umedecido com 90 μ l/ml das soluções a serem testadas (C). Após 24h, realizou a leitura das larvas vivas e mortas (D).

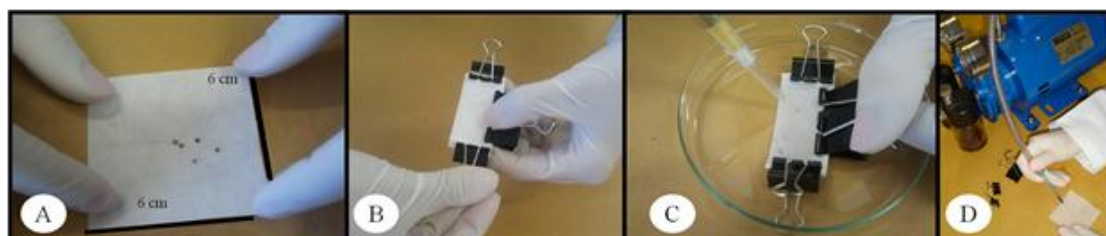


Figura 3. Teste de pacote de ninfas (A) onde cinco ninfas foram colocadas no interior de papéis de filtro (6x6cm), esses foram dobrados ao meio e as extremidades vedadas com clips (B). Após o fechamento, com a utilização de pipeta cada lado externo do envelope foi umedecido com 90 μ l/ml das soluções a serem testadas e os grupos controle (C). Após 24h, realizou a leitura das larvas vivas e mortas (D).

Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\%$), sendo que os controles foram acondicionados em câmara diferente dos grupos tratados. A avaliação da mortalidade foi feita após 24h, quantificando-se larvas e ninfas vivas e mortas com a utilização de bomba a vácuo acoplada em uma mangueira de borracha com ponteira adaptada na extremidade (Figuras 2 e 3). A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula: $\text{Mortalidade (\%)} = (\text{total de larvas mortas} / \text{total de larvas}) \times 100$.

5.3.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$ e analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p<0,05$). No caso de distribuição não paramétrica, os valores foram comparados através dos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls ($p<0,05$).

5.4 Resultados

Nos testes realizados com larvas de *A. cajennense* a menor concentração de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído resultaram em taxas de mortalidade de 45, 62,7; 10,2 e 81,6%, respectivamente. A taxa de mortalidade de 100% foi observada para o carvacrol e (*E*)-cinamaldeído a partir da concentração de 5,0 $\mu\text{l/ml}$ e 5,0 mg/ml para o timol, já o eugenol apresentou este percentual a partir da concentração de 15,0 $\mu\text{l/ml}$ (Tabela 3).

Os resultados obtidos para os testes com ninfas (Tabela 4) demonstraram que para carvacrol e timol causaram 100% de mortalidade a partir das concentrações 5,0 $\mu\text{l/ml}$ e 10,0 mg/ml respectivamente. O eugenol só atingiu esta eficiência na última concentração testada (20,0 $\mu\text{l/ml}$). Nos grupos tratados com (*E*)-cinamaldeído, a mortalidade não ultrapassou 64%. Em relação ao grupo controle, o carvacrol apresentou diferença significativa ($p<0,05$) em todas as concentrações; enquanto o mesmo foi verificado para o timol a partir da concentração (5,0 mg/ml). Para os fenilpropanóides (*E*)-cinamaldeído e eugenol, diferenças significativas foram observadas a partir das concentrações de 10,0 $\mu\text{l/ml}$ e 20,0 $\mu\text{l/ml}$, respectivamente.

Tabela 3. Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	Timol**	Eugenol	(<i>E</i>)-cinamaldeído
Controle	$0,0^a\pm 0,0^*$	$0,0^a\pm 0,0^*$	$0,0^a\pm 0,0^*$	$0,0^a\pm 0,0^+$
2,5 $\mu\text{l/ml}$	$45,0^b\pm 16,1$	$62,7^b\pm 16,5$	$10,2^b\pm 8,2$	$81,6^b\pm 11,7$
5,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$41,6^{bc}\pm 23,4$	$100,0^b\pm 0,0$
10,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$87,2^c\pm 9,3$	$100,0^b\pm 0,0$
15,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$
20,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$100,0^c\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%); **Timol = mg/ml.

Tabela 4. Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	Timol**	Eugenol	(<i>E</i>)-cinamaldeído
Controle	$0,0^a\pm 0,0^*$	$0,0^a\pm 0,0^*$	$2,0^a\pm 6,3^*$	$0,0^a\pm 0,0^+$
2,5 $\mu\text{l/ml}$	$64,6^b\pm 26,3$	$2,0^a\pm 6,3$	$2,0^a\pm 6,3$	$0,0^a\pm 0,0$
5,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$40,0^b\pm 29,4$	$0,0^a\pm 0,0$	$6,5^a\pm 10,5$
10,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$	$19,0^a\pm 23,3$	$18,0^b\pm 14,7$
15,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$	$22,0^a\pm 31,9$	$24,0^b\pm 29,5$
20,0 $\mu\text{l/ml}$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$	$100,0^b\pm 0,0$	$64,0^b\pm 33,7$

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%); **Timol = mg/ml.

Para as larvas de *R. sanguineus* tratadas com carvacrol e (*E*)-cinamaldeído na menor concentração (2,5 µl/ml), foram observadas taxas de mortalidade de 100% (Tabela 5), sendo constatadas diferenças significativas em relação ao controle. Nos grupos tratados com eugenol, apenas a primeira concentração testada (2,5 µl/ml), não diferiu estatisticamente do grupo controle, apresentando 19,2% de mortalidade; entretanto, na concentração de 5,0 µl/ml foi observada mortalidade de 97,8%, atingindo 100% nas demais concentrações (Tabela 5). Nos testes com ninfas foi possível observar que os monoterpenos carvacrol e timol causaram letalidade de 100% em todas as concentrações. Esta mesma eficiência só foi observada a partir da concentração de 10,0 µl/ml para os fenilpropanóides eugenol e (*E*)-cinamaldeído. Os grupos tratados com eugenol e (*E*)-cinamaldeído na concentração de (2,5 µl/ml) foram os únicos que não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao grupo controle (Tabela 6).

Tabela 5. Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	Eugenol	(<i>E</i>)-cinamaldeído
Controle	0,0 ^a ±0,0*	0,0 ^a ±0,0*	0,0 ^a ±0,0 ⁺
2,5 µl/ml	100,0 ^b ± 0,0	19,2 ^a ±23,2	100,0 ^b ±0,0
5,0 µl/ml	100,0 ^b ± 0,0	97,8 ^b ±4,6	100,0 ^b ±0,0
10,0 µl/ml	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ±0,0
15,0 µl/ml	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ±0,0
20,0 µl/ml	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ± 0,0	100,0 ^b ±0,0

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%).

Tabela 6. Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de carvacrol, timol, eugenol e (*E*)-cinamaldeído em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

	Carvacrol	Timol**	Eugenol	(<i>E</i>)-cinamaldeído
Controle	2,0 ^a ±6,3*	2,0 ^a ±6,3*	2,0 ^a ±6,3*	1,7 ^a ±5,3 ⁺
2,5 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	31,5 ^a ±31,0	52,0 ^{ab} ±24,9
5,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	82,3 ^b ±31,9	88,3 ^{bc} ±19,2
10,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^c ±0,0
15,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^c ±0,0
20,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^c ±0,0

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p>0,05$). +Grupo controle: água (30%) + etanol (70%); *Grupo controle: água (50%) + etanol (50%). **Timol = mg/ml.

5.5 Discussão

A investigação *in vitro* de plantas e seus derivados como potenciais acaricidas vem sendo alvo de estudos, uma vez que estas podem apresentar diferentes graus de eficiência para espécies e estágios distintos de carrapatos (FERRARINI *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011; CHAGAS *et al.*, 2012; SCORALIK *et al.*, 2012). Os óleos essenciais extraídos de plantas são compostos por vários constituintes e a partir da verificação de seus componentes majoritários é possível inferir sobre a atividade destas substâncias isoladas sobre diversos organismos (COMBRINK *et al.*, 2011).

O carvacrol entre as substâncias testadas foi uma das mais tóxicas causando elevadas taxas de mortalidade para *R. sanguineus* e *A. cajennense* desde as menores concentrações. Esse monoterpene já teve sua atividade carrapaticida comprovada sobre adultos de *R. turanicus* (COSKUN *et al.*, 2008). Segundo CETIN *et al.* (2010), três horas de exposição à substância na concentração de 10,0 µl/L foi suficiente para matar 93.3% de adultos de *Hyalomma marginatum* Kock, 1844. DOLAN *et al.* (2009) em testes de aspersão de carvacrol a 5% sobre a vegetação verificou redução significativa de ninfas de *Ixodes scapularis* Say, 1821 e *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758) no ambiente. Estes resultados corroboram a eficiência encontrada no presente estudo, onde foi observada alta sensibilidade dos

carrapatos para este monoterpeneo, demonstrando sua elevada eficiência para estágios imaturos de *R. sanguineus* e *A. cajennense*.

Estudos têm demonstrado que óleos essenciais ricos em carvacrol também apresentam atividade carrapaticida. CETIN *et al.* (2009) avaliaram a ação do óleo essencial de *Origanum minutiflorum* sobre adultos de *R. turanicus* e observaram que duas horas de exposição causou a morte de 100% dos indivíduos e a alta taxa de mortalidade foi atribuída a presença de carvacrol. O mesmo foi observado por MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* (2011a) que testaram o óleo de *Lippia graveolens* sobre larvas de *R. microplus*. Dessa forma, torna-se pertinente a realização de testes com outras plantas que apresentem carvacrol como constituinte abundante em seu óleo essencial.

O timol, monoterpeneo isômero do carvacrol, também apresentou alta toxicidade desde as menores concentrações testadas. Sua atividade era esperada, uma vez que essa substância já teve sua atividade carrapaticida evidenciada para diferentes espécies de carrapatos, inclusive para *R. sanguineus* e *A. cajennense* (MENDES *et al.*, 2011; DAEMON *et al.*, 2009). Entretanto, para *R. sanguineus*, o timol em formulação etanólica só tinha sido testado para larvas não ingurgitadas (DAEMON *et al.*, 2012), sendo esse o primeiro registro para ninfas.

Com relação aos testes com *A. cajennense*, esse monoterpeneo já havia sido testado em formulação aquosa, sendo utilizado dimetilsulfóxido (1%) como adjuvante de solubilização (MENDES *et al.*, 2011) e a mortalidade de larvas não ingurgitadas foi superior a 90% a partir da concentração de 10 mg/ml. No presente estudo, a utilização da concentração de 5,0 mg/ml resultou em morte de 100% das larvas, demonstrando que a solubilização em etanol potencializou a atividade carrapaticida do timol sobre esse estágio. Tal fato também foi verificado para larvas não ingurgitadas de *R. microplus* (SCORALIK *et al.*, 2012) e *R. sanguineus* (DAEMON *et al.*, 2012), sendo que esses autores atribuíram como fator responsável para essa potencialização, a melhor solubilidade do timol em etanol.

Assim como mencionado para o carvacrol, óleos essenciais de plantas que apresentam o timol na sua composição também tiveram atividade carrapaticida. Estudos com óleo de *Lippia sidoides* atribuíram sua ação deletéria sobre larvas de *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) e larvas e fêmeas de *R. microplus* ao timol, seu componente majoritário (GOMES *et al.*, 2012).

O eugenol é encontrado no óleo de cravo-da-índia, *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) e em plantas das famílias Lauraceae e Lamiaceae (FRANZ & NOVAK 2009) também apresentou atividade carrapaticida sobre os estágios imaturos desses carrapatos. Esse fenilpropanóide teve seu poder repelente demonstrado por DEL FABBRO & NAZZI (2008)

sobre ninfas de *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758). MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* (2011b) verificaram atividade acaricida dos óleos essenciais de *Pimenta dioica* e *Ocimum basilicum* sobre *R. microplus* e atribuíram esse efeito ao metil-eugenol e eugenol. MONTEIRO *et al.* (2012) comprovaram a ação deletéria do eugenol utilizando a mesma metodologia e as mesmas concentrações do presente estudo, sobre larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, sendo constatada taxas de mortalidade superior a 99% para *R. microplus* desde a menor concentração (2,5 µl/ml). No presente estudo, mortalidade similar só foi observado a partir da concentração de 5,0 µl/ml para *R. sanguineus* e 10,0 µl/ml para *A. cajennense*. A partir desses resultados, podemos inferir que larvas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* são menos sensíveis ao eugenol do que larvas de *R. microplus*, fato também observado para o timol em estudos anteriores (DAEMON *et al.*, 2009; MENDES *et al.*, 2011).

O (*E*)-cinamaldeído teve sua atividade carrapaticida observada sobre larvas de *R. microplus* e *D. nitens*, o estudo utilizou a mesma metodologia e concentrações do presente trabalho. A taxa de mortalidade para as duas espécies de carrapatos foi superior a 95% na menor concentração testada (SENRA *et al.*, 2013). Entretanto, no presente estudo este fenilpropanóide foi a única substância que mesmo na maior concentração testada (20 µl/ml) atingiu 64% de mortalidade para ninfas de *A. cajennense*. Esta substância já teve sua eficiência comprovada sobre outros artrópodes, como descrito por LEE *et al.* (2008) sobre o coleóptero *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) e por SHEN *et al.* (2012) para o ácaro *Psoroptes cuniculi* (Delafond, 1859).

O conjunto de resultados obtidos neste estudo indica que os monoterpenos carvacrol e timol e os fenilpropanóides eugenol e (*E*)-cinamaldeído possuem atividade deletéria sobre larvas e ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*. Assim, existe a necessidade de novas pesquisas envolvendo outros estágios de desenvolvimento desses carrapatos, a investigação do sinergismo entre as substâncias, além de testes em condições naturais.

5.6 Referências bibliográficas

- ALI, S. M.; KHAN, A. A.; AHMED, I.; MUSADDIQ, M.; AHMED, K. S.; POLASA, H.; RAO, L. V.; HABIBULLAH, C. M.; SECHI, L. A.; AHMED, N. (2005). Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v4, p.1-7, 2005.
- BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; BARBOSA, C. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, p. 89-96, 2011.
- CETIN, H.; CILEK, J. E.; AYDIN, L.; YANIKOGLU, A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.160, p.359-361, 2009.
- CETIN, H.; CILEK, J. E.; OZ, E.; AYDIN, L.; DEVECI, O.; YANIKOGLU, A. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and [gamma]-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.170, p. 287-290, 2010.
- CHAGAS, A. C. S.; BARROS, L.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA, M. S.; BIZZO, H. In vitro efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.110, p.295-303, 2012.
- COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, p. 344-349, 2011.
- COSKUN, S.; GIRISGIN, O.; KURKCUOGLU, M.; MALYER, H.; GIRISGIN, A. O.; KIRIMER, N.; BASER, K. H. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). **Parasitology Research**, v.103, p. 259-261, 2008.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; ROSA, L. S.; CLEMENTE, M. A.; ARCOVERDE, A. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.105, p.495-497, 2009.
- DAEMON, E.; MATURANO, R.; MONTEIRO, C. M. O.; SCORALIK, M. G.; MASSONI, T. Acaricidal activity of hydroethanolic formulations of thymol against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Veterinary Parasitology**, v.186, p. 542-545, 2012.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v.152, p.173-185, 2008.

DEL FABBRO, S.; NAZZI, F. Repellent effect of sweet basil compounds on *Ixodes ricinus* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v.45, p. 219-228, 2008.

DOLAN, M. C.; JORDAN, R. A.; SCHULZE, T. L.; SCHULZE, C. J.; MANNING, M. C.; RUFFOLO, D.; SCHMIDT, J. P.; PIESMAN, J.; KARCHESY, J. J. Ability of Two Natural Products, Nootkatone and Carvacrol, to Suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme Disease Endemic Area of New Jersey. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p. 231-232, 2009.

FERRARINI, S. R.; DUARTE, M. O.; ROSA, R. G.; ROLIM, V.; EIFLER-LIMA, V. L.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. L. S. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and [beta]-amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.157, p. 149-153, 2008.

FRANZ, C.; NOVAK, J. **Sources of Essential Oils**. In: Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. In: K Hüsnü Can Baser and Gerhard Buchbauer. CRC Press, New York, p.39-81, 2009.

GOMES, G. A.; MONTEIRO, C. M. O.; SENRA, T. O. S.; ZERINGÓTA, V.; CALMON, F.; MATOS, R. S.; DAEMON, E.; GOIS, R. W. S.; SANTIAGO, G. M. P.; CARVALHO, M. G. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.111, p.423-430, 2012.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. Plêiade/FAPESP, São Paulo, p 218, 2001.

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

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. **Biopest**, v.4, p.63-84, 2008.

LABRUNA, M. B. BIOLOGICA-ECOLOGIA DE *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.123-124, 2004.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. (2006) **Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical**. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (eds) Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 155–164, 2006.

LEE, E. J.; KIM, J. R.; CHOI, D. R.; AHN, Y. J. Toxicity of cassia e cinnamon oil compounds and cinnamaldehyde-related compounds to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.101, p.1960-1966, 2008.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO-CRUZ, R.; CASTILLO-HERRERA, G.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; ALVAREZ, A. H.; LUGO-CERVANTES, E. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales:Liliaceae) against

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.48, p.822-827, 2011a.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J.; LOPEZ-RAMIREZ, J.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; LUGO-CERVANTES, E.C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:Ixodidae). **Parasitology Research**, v.108, p. 481-487, 2011b.

MARTINS, J. R.; MEDRI, I. M.; OLIVEIRA, C. M.; GUGLIELMONE, A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, p.293-295, 2004.

MENDES, A. S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; BRITO, F. C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.183, p.136-139, 2011.

MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M. A.; ROSA, L. S.; MATURANO, R. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.105, p.1093-1097, 2009.

MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; SILVA, A. M. R.; MATURANO, R.; AMARAL, C. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.106, p. 615-619, 2010.

MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; DAEMON, E.; CATUNDA-JUNIOR, F. E. A.; CALMON, F.; SENRA, T. O. S.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research**, v.111, p.1295-1300, 2012.

NEITZ, W. O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. Laboratory investigations on the life caroo paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann,1904).**Journal of Veterinary Research**, v.38, p.215-224, 1971.

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, p. 55-57, 1996.

POZZO, M. D.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D. F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I. H.; ALVES, S. H.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v.41, p. 667-672, 2011.

SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, v.110, p.645-648, 2012.

SENRA, T. O. S.; ZERINGÓTA, V.; MONTEIRO, C. M. O.; CALMON, F.; MATURANO, R.; GOMES, G. A.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G.; DAEMON, E. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (E)-cinnamaldehyde, *trans*-anethole and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.112, p.1461-1466, 2013.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M., OLIVEIRA FILHO, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, p.46-49, 2004.

SHEN, F.; XING, M.; LIU, L.; TANG, X.; WANG, W.; WANG, X.; WU, X.; WANG, X.; WANG, X.; WANG, G.; ZHANG, J.; LI, L.; ZHANG, J.; YU, L. Efficacy of *trans*-cinnamaldehyde against *Psoroptes cuniculi* in vitro. **Parasitology Research**, v.110, p.1321-1326, 2012.

SOUZA, C. E.; CALLE, S. B.; CAMARGO, M. C. G. O. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.203-204, 2012.

STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Canestrini). **Bulletin of Entomological Research**, v. 53, p.563-578, 1962.

6 Observações preliminares sobre a presença de ectoparasitos em aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.

6.1 Introdução

A Mata Atlântica abriga um elevado número de espécies endêmicas, sendo o segundo maior bioma tropical do continente americano, concentrando elevada riqueza e diversidade, é considerada, atualmente, como um dos mais ricos conjuntos de ecossistemas em termos de diversidade biológica. Distribuída ao longo de mais de 23 graus de latitude sul, este bioma é composto de uma série de fitofisionomias diversificadas, o que propiciou significativa diversificação ambiental e, conseqüentemente, a evolução de um complexo biótico de natureza vegetal e animal altamente rico (GALINDO-LEAL & CÂMARA, 2003).

Entretanto, atualmente a Mata Atlântica se encontra entre um dos biomas mais ameaçados (MITTERMEIER *et al.*, 1998) devido aos altos níveis de degradação e de fragmentação de seus ambientes naturais (LAW & DICKMAN, 1998) que modificam substancialmente a estrutura das populações de animais silvestres, afetando a riqueza e a diversidade de espécies (LAW & DICKMAN, 1998). Com relação à avifauna, a Mata Atlântica abriga mais de 600 espécies de aves, das quais cerca de 160 são endêmicas (WWF, 2011).

Em ambiente natural, as aves podem apresentar ectoparasitos, principalmente insetos e ácaros, que podem ser encontrados nas penas, pele, vias respiratórias, assim como em ninhos. Os ectoparasitos são importantes vetores de agentes patogênicos, como hemoparasitos causadores de diarreia, anemia, caquexia, depressão e apatia (SANTOS *et al.*, 2008).

O diagnóstico de ectoparasitos é uma ferramenta importante que permite elucidar aspectos relacionados a índices de morbidade e mortalidade causados por doenças parasitárias em diferentes espécies de aves. Além disso, inventários ectoparasitológicos em aves silvestres podem ajudar na compreensão da relação parasito-hospedeiro e fornecer subsídios para a elaboração de estratégias de tratamento e profilaxia das doenças parasitárias decorrentes do parasitismo. Algumas abordagens já foram realizadas enfatizando o potencial patogênico de determinados parasitos em aves de importância econômica. Entretanto, estudos que consideram os parasitos de aves silvestres ainda são escassos frente à diversidade de aves que ocorrem no Brasil. Com objetivo de contribuir para o conhecimento da diversidade de

ectoparasitos em aves silvestres que ocorrem na Mata Atlântica, o presente trabalho se propôs a apresentar algumas observações preliminares quanto às investigações dos mesmos em aves mantidas na sede do IBAMA de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Este trabalho é parte do projeto “Estudos sobre ectoparasitos e hemoparasitos de aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais’ que conta com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior com vigência até o ano de 2016.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Local de coleta e identificação dos ectoparasitos

O presente trabalho está sendo desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP), localizado no Laboratório Avançado de Zoologia (LAZ) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais. As coletas são realizadas semanalmente no Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), no município de Juiz de Fora, MG. As aves são examinadas quanto à presença de ectoparasitos aderidos à superfície corporal e penas, como moscas, carrapatos, ácaros e piolhos. Estes são retirados com pinça de ponta fina, acondicionados em fracos de polipropileno contendo álcool isopropílico e posteriormente encaminhados ao LAP para futura identificação sob microscópio estereoscópico, utilizando chaves adequadas para cada grupo de ectoparasitos.

6.3 Resultados

Até o momento foram realizadas 31 incursões ao local de coleta em intervalos semanais com início no dia 18/11/2011. Foram examinadas 72 aves de 17 espécies, pertencentes a nove famílias: Thraupidae, Acciptridae, Icteridae, Tyrannidae, Turdidae, Cardinalidae, Tytonidae, Cracidae e Bucconidae, sendo a Thraupidae a mais representativa com 66% (Gráfico 1). Das 72 aves examinadas, 29,2% estavam com ectoparasitos. Devido ao

baixo número de aves examinadas de determinadas espécies, ainda não é possível inferir a respeito dos ectoparasitos nas mesmas, o que evidencia a necessidade da continuidade deste trabalho (Tabela 7).

Gráfico 1. Distribuição do percentual de hospedeiros examinados distribuídos entre as famílias Thraupidae, Accipitridae, Icteridae, Tyrannidae, Turdidae, Cardinalidae, Tytonidae, Cracidae e Bucconidae existentes na região de Mata Atlântica de Juiz de Fora, Minas Gerais.

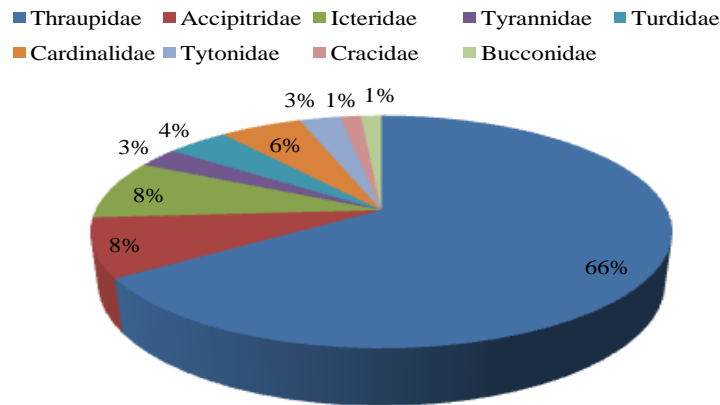


Tabela 7- Espécies e nomes populares de aves da região de Mata Atlântica de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Família/Espécie	Nome popular	Nº de aves coletadas	Nº de aves infestadas por ectoparasitos	Prevalência %
Tytonidae				
<i>Tyto alba</i>	Coruja suindara	2	1	50
Cracidae				
<i>Penelope jacquacu</i>	jacu- de- spix	1	1	100
Bucconidae				
<i>Nystalus chacuru</i>	João bobo	1	0	0
Accipitridae				
<i>Heterospizias meridionalis</i>	Gavião caboclo	1	0	0
<i>Rupornis magnirostris</i>	Gavião Carijó	5	0	0
Tyrannidae				
<i>Rupornis magnirostris</i>	Bem-te-vi	2	0	0
Icteridae				
<i>Icterus jamacaii</i>	Corripião	2	1	50
<i>Chrysomus ruficapillus</i>	Garibaldi	2	0	0
<i>Gnorimopsar chopi</i>	Pássaro preto/ graúna	2	0	0
Cardinalidae				
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	Azulão	4	2	50
Thraupidae				
<i>Saltator fuliginosus</i>	Pimentão	1	1	100
<i>Lanio pileatus</i>	Galinho da serra	1	0	0
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Bico de veludo	2	1	50
<i>Dacnis cayana</i>	Saí-azul	1	1	100
<i>Tangara sayaca</i>	Sanhaço	1	1	100
<i>Saltator similis</i>	Trinca ferro	41	11	26,8
Turdidae				
<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá laranjeira	3	1	33,3
Total		72	21	29,2

6.4 Conclusão

O presente estudo atende a necessidade do conhecimento multidisciplinar, visando analisar diferentes aspectos do parasitismo, como interação parasito-hospedeiro, vetoração de patógenos e especificidade parasitária. Cabe ressaltar a importância de medidas de conservação das espécies hospedeiras, levando-se em consideração que o parasitismo é uma das principais forças de pressão seletiva afetando a história de vida das aves. Os resultados finais da execução deste projeto podem contribuir para aplicação de medidas de manejo e conservação da fauna silvestre da região bem como ampliar o conhecimento a respeito da diversidade de ectoparasitos das mesmas.

6.5 Referências bibliográficas

GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. **Atlantic forest hotspots status: an overview**. *In*: The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. Center for Applied Biodiversity Science e Island Press, Washington, D.C. p. 3-11, 2003.

LAW, B. S.; DICKMAN, C. R. The use of habitat mosaics by terrestrial vertebrate fauna: implications for conservation and management. **Biodiversity and Conservation**, v. 7, p.323-333, 1998.

MITTERMEIER, R. A.; MYERS, N.; THOMSEN, J. B.; FONSECA, G. A. B.; OLIVIERI, S. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: approaches to setting conservation priorities. **Conservation Biology**, v.12, p.516-520, 1998.

WWF, disponível em: <http://www.wwf.org.br/informacoes/biblioteca/?26722/Guia-de-aves-Mata-Atlantica-Paulista>, acesso em 09/06/11.

SANTOS, G. C.; MATUELLA, G. A.; CORAIOLA, A. M.; SILVA, L. C.; LANGE, R. R.; SANTIN, E. Doenças de aves selvagens diagnosticadas na Universidade Federal do Paraná, Brasil (2003-2007). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, p.565-570, 2008.