

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

Andressa Mendes Ribeiro e Silva

**ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO TIMOL SOBRE LARVAS E NINFAS DE
Amblyomma cajennense (ACARI, IXODIDAE) E FÊMEAS INGURGITADAS E
OVOS DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI, IXODIDAE)**

Juiz de Fora
2011

ANDRESSA MENDES RIBEIRO E SILVA

**ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO TIMOL SOBRE LARVAS E NINFAS DE
Amblyomma cajennense (ACARI, IXODIDAE) FÊMEAS INGURGITADAS E OVOS
DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI, IXODIDAE)**

Dissertação de Mestrado apresenta ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Área de Concentração em 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: Prof. MSc. Caio Márcio de Oliveira Monteiro.

Juiz de Fora

2011

ANDRESSA MENDES RIBEIRO E SILVA

**ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO TIMOL SOBRE LARVAS E NINFAS DE
Amblyomma cajennense (ACARI, IXODIDAE) FÊMEAS INGURGITADAS E OVOS
DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI, IXODIDAE).**

Dissertação de Mestrado apresenta ao
Curso de Mestrado do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas: Área
de Concentração em Comportamento e
Biologia Animal da Universidade Federal
de Juiz de Fora, como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre

BANCA EXAMINADORA

Dra. Ana Carolina de Souza Chagas
Embrapa/ CPPSE

Dra. Márcia Cristina de Azevedo Prata
Embrapa Gado de Leite

Dr. Erik Daemon
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Vânia da Silva Mendes por todo apoio que sempre me deu e por sempre acreditar em mim.

Aos meus orientadores Dr. Erik Daemon e ao MSc. Caio Márcio de Oliveira Monteiro pelos incentivos, ensinamentos e amizade.

Aos queridos Dr. John Furlong e a Dra. Márcia Cristina de Azevedo Prata pelas contribuições, amizade e ensinamentos.

Aos amigos da Embrapa Gado de Leite pela grande ajuda prestada, em especial a Aline Fazza.

Aos amigos de laboratório que contribuíram de maneira efetiva para o desenvolvimento do trabalho.

E a Jeová por tudo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 - INTRODUÇÃO.....	10
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	12
SEÇÃO I	
Atividade carrapaticida e ovicida do timol em fêmeas ingurgitadas e ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (Canestrini, 1888) (ACARI: IXODIDAE).....	19
SEÇÃO II	
Avaliação do efeito carrapaticida do timol sobre larvas e ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE).....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

LISTA DE TABELAS

SEÇÃO I

- Tabela 1** - Peso antes do início da postura, peso de massa de ovos, índices de produção de ovos (%IPO), e nutricional (%IN) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratado com diferentes concentrações de timol em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80 10%)..... 24
- Tabela 2** – Período de pré-postura, período de postura, período de sobrevivência, e percentual de eclosão de fêmeas de ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes concentrações de timol em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80 10%)..... 25
- Tabela 3** – Percentual de eclosão de larvas de *R. (B.) microplus* que originaram de ovos tratados com concentrações diferentes de timol em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR > $80\pm 10\%$)..... 26

SEÇÃO II

- Tabela 1** - Percentual de mortalidade de larvas não ingurgitadas e ingurgitadas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de timol e mantidas em condições de laboratório a $27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR > $80\pm 10\%$ 37

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** - Distribuição de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) segundo unidades federativas do Brasil..... 12

SEÇÃO I

- Figura 1** - Timol sendo emulsionado com auxílio de placa aquecedora..... 21
- Figura 2** - Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* fixadas com auxílio de fita adesiva em placa de Petri..... 22
- Figura 3** - Massa de ovos em placa de Petri forrada com papel de filtro..... 23
- Figura 4** - Massa de ovos em tubo de ensaio..... 23
- Figura 5** - Porcentagem de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratados com concentrações diferentes de timol em condições de laboratório ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR > 80 10%)..... 26

SEÇÃO II

- Figura 1** - Coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L.), mestiços Califórnia x Nova Zelândia, Infestado com larvas de *Amblyomma Cajennense*..... 34
- Figura 2** - Etapas do experimento I..... 35
- Figura 3** - Etapas dos experimentos II e III..... 36

RESUMO

Dentre as várias espécies de ixodídeos existentes na região neotropical, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Amblyomma cajennense* são duas das que despertam maior interesse econômico e em saúde pública, ocasionando perdas na produção animal e atuando como vetores de agentes patogênicos. A utilização de carrapaticidas químicos sintéticos é o método predominante no controle destes artrópodes, entretanto, o uso indiscriminado tem resultado em sérios problemas, como a pressão de seleção de carrapatos resistentes, risco de intoxicação de animais e do homem. Uma alternativa a estes métodos tem sido o uso de substâncias de origem vegetal de pouca ou nenhuma toxicidade para animais e humanos. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade carrapaticida do timol em diferentes concentrações sobre larvas e ninfas de *A. cajennense* e fêmeas ingurgitadas e ovos de *R. microplus*. O estudo foi desenvolvido no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. No primeiro estudo (subdividido em dois experimentos) foi avaliada a influência de diferentes concentrações de timol (1,0%, 1,5%, e 2,0%) sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* e também sua atividade sobre ovos deste carrapato. Os seguintes parâmetros biológicos foram observados: peso inicial (mg); peso de massa de ovos (mg); período de pré-postura (dias), período de postura (dias), período de sobrevivência (dias); percentual de eclosão de larvas; índice de produção de ovos (IPO), índice nutricional (IN) e eficácia do tratamento. No primeiro experimento os parâmetros peso da fêmea antes da postura e período de pré-postura não apresentaram diferenças significativas ($p > 0.05$) entre os grupos. As diferentes concentrações de timol causaram alterações nos parâmetros peso da massa de ovos, período de postura, período de sobrevivência, percentual de eclosão de larvas, IPO, e IN, sendo constatadas diferenças altamente significativas entre os grupos tratados e o controle ($p < 0.01$). A eficácia de controle foi superior a 95% em todos os tratamentos, chegando a 99% na concentração de 2,0%. O percentual de eclosão de larvas não foi afetado em nenhum dos tratamentos ($p > 0.05$). No segundo estudo foi avaliado o potencial carrapaticida do timol sobre larvas não ingurgitadas e ingurgitadas e ninfas ingurgitadas de *A. cajennense*. Os valores referentes à mortalidade de larvas não ingurgitadas foram de 18,2%, 51,8%, 97,6%, 93,5%, 94,5%, e para ninfas ingurgitadas foi de 26,0%, 92,2%; 100,0%, 100,0%, 100,0% nas concentrações de 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%, respectivamente. No teste com larvas ingurgitadas a mortalidade foi de 100,0% em todos os tratamentos. Os resultados encontrados no estudo demonstram que o timol possui ação carrapaticida, interferindo na maioria dos parâmetros analisados para *R. microplus*, apresentando também atividade acaricida sobre imaturos de *A. cajennense*, sendo larvas e ninfas ingurgitadas mais susceptíveis do que larvas não ingurgitadas.

Palavras-chave – carrapato estrela, carrapato dos bovinos, controle alternativo.

ABSTRACT

Among the various species of *Ixodidae* existing in the Neotropics, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Amblyomma cajennense* are two of the ones that arouse more economic and public health interest, causing losses in animal production and acting as pathogens vectors. The use of synthetic chemical acaricide is the predominant method in controlling these arthropods; however, the indiscriminate use has resulted in serious problems such as the pressure on the selection for resistant ticks and the risk of animal and man toxicity. An alternative to this method has been the use of plant origin substances with little or no toxicity to animals and humans. The fore, this study aimed to evaluate the acaricide activity of thymol in different concentrations on larvae and nymphs of *A. cajennense* and engorged females and eggs of *R. microplus*. The study was conducted in the Advanced Laboratory of Zoology at the Federal University of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil. In the first study (divided into two experiments) it was evaluated the influence of different concentrations of thymol (1.0%, 1.5% and 2.0%) on the biological parameters of the non-parasitic phase of *R. microplus* engorged females and also its activity on the eggs of this tick. The following biological parameters were observed: initial weight (mg), eggs weight mass (mg), pre-oviposition (days), oviposition period (days), survival period (days), percentage of hatching; egg production index (IPO), nutritional index (NI) and treatment efficacy. In the first experiment, the parameters weight of the female before oviposition and pre-oviposition presented no significant differences ($p > 0.05$) between groups. The different concentrations of Thymol caused changes in the parameters eggs weight mass, oviposition period, survival period, percentage of hatching, IPO, and IN, having found highly significant differences between the treated and control groups ($p < 0.01$). Control efficacy was greater than 95% in all treatments, reaching 99% at 2.0%. The percentage of hatching was not affected in any treatment ($p > 0.05$). In the second study it was evaluated the acaricide potential of Thymol on not engorged and engorged larvae and engorged nymphs of *A. cajennense*. The values concerning the mortality of not engorged larvae were 18.2%, 51.8%, 97.6%, 93.5%, 94.5%, and for engorged nymphs they were 26.0%, 92.2 % 100.0% 100.0% 100.0% at concentrations of 0.25%, 0.5%, 1.0%, 1.5% and 2.0% respectively. In tests with engorged larvae the mortality was 100.0% in all treatments. The results found in this study demonstrate that Thymol has an acaricide action, interfering in the majority of the analyzed parameters for *R. microplus*, also showing acaricidal activity on immature *A. cajennense*, being larvae and engorged nymphs more susceptible than not engorged ones.

Keywords - star tick, cattle tick, alternative control.

1 INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitos importantes para saúde pública e animal, sendo responsáveis pela transmissão de agentes infecciosos e por causarem injúrias aos seus hospedeiros. Dentre as várias espécies de ixodídeos existentes na região neotropical, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (ACARI, IXODIDAE) [sinonímia *Boophilus microplus*] e *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (ACARI, IXODIDAE) são duas das que despertam maior interesse econômico e em saúde pública (MARTINS et al., 2006).

Amblyomma cajennense, popularmente conhecido como carrapato estrela, tem sua distribuição restrita ao continente americano, sendo encontrado desde os estados ao sul dos EUA até o norte da Argentina, incluindo algumas ilhas do caribe (GULGLIELMONE et al., 2006), estando amplamente distribuído no território nacional (OLIVEIRA, 2004). Os equinos são seus principais hospedeiros, porém apresentam baixa especificidade parasitária, podendo parasitar outros animais como cervídeos, bovídeos canídeos domésticos e silvestres e inclusive roedores e aves silvestres (GUIMARÃES et al., 2001). Sua importância médico-veterinária é caracterizada pelos danos diretamente causados a animais de produção como espoliação sanguínea e suas consequências e danos indiretos como a transmissão de agentes patogênicos e gastos associados ao seu controle. *A. cajennense* também assume importante papel na saúde pública, sendo a principal espécie de ixodídeo que parasita o homem na região Neotropical e o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente causal da febre maculosa (GUEDES et al., 2005; GULGLIELMONE et al., 2006).

Rhipicephalus (B.) microplus, conhecido vulgarmente como carrapato dos bovinos é a espécie que desperta o maior interesse econômico, a ponto de centralizar a atenção de indústrias de carrapaticidas, órgãos governamentais e instituições de pesquisa (MARTINS et al., 2006). O parasitismo deste carrapato pode causar prejuízos diretos devido à espoliação sanguínea e suas consequências e indiretos como transmissão de agentes patogênicos, gastos com medicamentos e mão-de-obra especializada (FURLONG et al., 2004). Estima-se que no Brasil as perdas econômicas causadas por este ixodídeo cheguem a dois bilhões de dólares anuais (GRISI et al., 2002).

A utilização de carrapaticidas sintéticos, apesar de apresentar significativa contribuição no controle destes animais, vem acarretando sérios problemas devido ao uso indiscriminado e sem critérios técnicos. Esta prática vem resultando na seleção de populações de carrapatos resistentes, aumentando o risco de intoxicação de animais e do homem; poluição do ambiente e alimentos e aumento no custo de produção (ROCHA, 1996; FURLONG et al., 2004). Dessa forma, torna-se necessária a busca de novas alternativas que possam ser empregadas em programas de manejo integrado para controle destes artrópodes, minimizando impactos anteriormente citados.

Com isto, existe crescente demanda por busca de novas alternativas no controle de pragas, visando a utilização mínima de produtos químicos sintéticos, com intuito de diminuir a quantidade de resíduos no ambiente. Neste sentido, a busca por extratos vegetais com propriedades praguicidas vêm se intensificando nas últimas décadas e ganhando cada vez mais espaço, por representar menor risco de contaminação ao ambiente e por causar menos pressão de seleção de populações de carrapatos mais resistentes (BALADRIN et al., 1985; ROEL, 2001; CHAGAS, 2004).

O timol é um monoterpenóide, encontrado em plantas do gênero *Thymus* e da família *Lamiacea*, que já teve seu potencial inseticida, moluscicida e acaricida evidenciado por diferentes autores (INDORF et al., 1995; MANSOUR et al., 2000; FERREIRA, 2009). Entretanto, sua atividade carrapaticida só foi demonstrada recentemente, onde foi constatada a atividade carrapaticida do timol sobre larvas de *R. (B.) microplus* e larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (NOVELINO et al., 2007; DAEMON et al., 2009; MONTEIRO et al., 2010).

Com isso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade carrapaticida de diferentes concentrações de timol sobre fêmeas ingurgitadas e ovos de *R. (B.) microplus* e sobre larvas e ninfas ingurgitadas e não ingurgitadas de *A. cajennense*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787)

Amblyomma cajennense é encontrado frequentemente infestando equídeos, que são seus hospedeiros preferenciais. Porém devido sua baixa especificidade parasitária, principalmente dos estágios imaturos, pode infestar outros mamíferos como bovídeos, cervídeos, canídeos domésticos e silvestres, além de aves e do próprio homem, podendo sobreviver em algumas regiões parasitando várias espécies de animais silvestres, principalmente em áreas onde a vegetação é densa, as quais estes hospedeiros silvestres frequentam com mais assiduidade (OLIVEIRA, 2004).

Este carrapato está presente do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. No Brasil, é encontrado com frequência em todos os estados da região sudeste e centro oeste, porém com distribuição limitada nas demais regiões (VIEIRA et al., 2004). No Brasil, estudos demonstraram que *A. cajennense* ocorre o ano todo em pastagens, mas há picos distintos de predominância de larvas, ninfas e adultos. Estudos sobre variação sazonal demonstram que em umidades e temperaturas menores (estações frias) prevalecem ninfas e larvas, e adultos em umidades e temperaturas mais elevadas (estações quentes). (PINNA et al., 2004).



Figura 1 - Distribuição de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) segundo unidades federativas do Brasil. Reproduzido: Vieira et al. (2004).

Amblyomma cajennense é um carrapato trioxeno, ou seja, para completar seu ciclo são necessários três hospedeiros. A primeira fase do ciclo se inicia com a queda da fêmea ingurgitada, que no solo procura abrigo para começar a oviposição. De acordo com o microclima a postura pode se iniciar após 12 dias e durar cerca de 25 dias, sendo colocado uma média de 5000 a 8000 ovos, que incubam em um período de 30 dias. A porcentagem das larvas eclodidas é em média de 95%, e estas podem permanecer em jejum por meses no ambiente até que encontrem um hospedeiro (LEITE et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2001; OLIVEIRA, 2004; VIEIRA et al., 2004; PRATA, 2005). Durante esse período as larvas sobem e descem na vegetação de acordo com a umidade e temperatura, pois esse estágio possui menor resistência a fatores ambientais. Após encontrarem o primeiro hospedeiro as larvas iniciam o repasto sanguíneo e por volta de cinco dias após este período elas desprendem-se e vão para vegetação onde buscam abrigo para a realização da muda para o estágio de ninfa (LEITE et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2001; OLIVEIRA, 2004; VIEIRA et al., 2004; PRATA, 2005). Essas podem permanecer em jejum por volta de um ano até encontrar o hospedeiro. As ninfas se alimentam durante cinco a sete dias e em seguida desprendem-se para que ocorra a muda, dando origem a machos e fêmeas. Ao encontrar o hospedeiro, as fêmeas se fixam e iniciam o repasto sanguíneo, momento este em que ocorre a cópula. Em seguida, segue-se o processo de ingurgitamento e a fêmea ingurgitada desce ao solo para iniciar o processo de oviposição, dando início a uma nova geração (LEITE et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2001; OLIVEIRA, 2004; VIEIRA et al., 2004; PRATA, 2005).

A importância deste ixodídeo deve ser levada em conta, pois essa espécie de carrapato é transmissora da bactéria *R. rickettsii* (HARRISON et al., 2002; SOUZA et al., 2004) agente etiológico da febre maculosa. Esta é uma doença infecciosa e que se desenvolve em caráter endêmico (SANGIONI, 2003).

2.2 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1888)

Do ponto de vista econômico *R. (B.) microplus*, conhecido como carrapato dos bovinos, é o mais importante da região Neotropical e do mundo, causando grandes prejuízos à pecuária (PASSEADOR et al., 2003; MARTINS et al., 2006;

JONSSON; FLAUTISTA 2007). Espécie de origem asiática, mais precisamente da Índia e Ilha de Java, podendo ser encontrada em áreas tropicais e subtropicais.

Os problemas causados pelo carrapato aos bovinos são: ingestão de sangue (uma fêmea pode aumentar em 200 vezes o seu tamanho) que, dependendo da infestação, pode comprometer a produção de carne e leite; inoculação de toxinas no hospedeiro promovendo diversas alterações e conseqüências fisiológicas; redução na qualidade do couro do animal e transmissão de agentes infecciosos, principalmente as *Babesias*, responsáveis pela "tristeza parasitária bovina". Esta enfermidade apresenta-se, em certas regiões, como séria causa de prejuízo à criação bovina, principalmente nos núcleos de raças européias de corte e leite. Além desses danos diretos, considerados prejudiciais à bovinocultura, existem aqueles indiretos, que são resultantes da mão-de-obra necessária para o controle desse parasito, assim como as demais despesas com construções, compra de aspersores ou manutenção de banheiro e aquisição de carrapaticidas (GOMES, 1998).

Este parasito utiliza somente um hospedeiro em seu ciclo evolutivo e apresenta duas fases: a fase não parasitária, que se realiza no solo e na vegetação, e a fase parasitária, realizada no corpo do hospedeiro. A fase não parasitária, resumidamente, começa com a fêmea fecundada e ingurgitada caindo ao solo para realizar a postura e a fase parasitária, com duração média de 21 dias, inicia-se com a fixação das larvas em um hospedeiro suscetível e termina quando as fêmeas fecundadas e ingurgitadas desprendem-se desse hospedeiro. O início e o término do ciclo dão-se quase sempre no pasto, onde geralmente se integram o parasito e o hospedeiro. Neste ambiente, vários são os fatores (clima, vegetação, densidade animal, raça etc.) que influenciam na sobrevivência do carrapato. Devido ao pouco conhecimento dos produtores, em especial, de sua biologia e dos componentes do seu ecossistema, o combate tem sido feito, na maioria das vezes, de forma inadequada, restringindo-se quase que exclusivamente a sua fase parasitária (GOMES, 1998).

2.3 Controle de carrapatos com substâncias de origem vegetal

O uso de extratos vegetais tem sido uma alternativa no controle de pragas, tendo em vista principalmente a grande diversidade vegetal brasileira, cuja flora é uma das mais ricas do mundo (JACOBY et al., 2002).

Segundo Roel (2001), determinados derivados botânicos podem causar diversos efeitos como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alteração no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases de ixodídeos. Sousa et al. (2008) observaram que para larvas *R. microplus* extratos oleosos de frutos verdes e maduros de Cinamomo (*Melia azedarach*) causaram mortalidade de 100% nas maiores concentrações (0,25% a 0,0156%) utilizadas no estudo. *Calea serrata* (*Asteraceae*) é outro exemplo de espécie vegetal brasileira que foi utilizada no estudo feito por Ribeiro et al. (2007) sobre larvas de *R. sanguineus* e ovos de *R. microplus*; os resultados obtidos demonstraram toxidez para ambos.

No Brasil, as principais espécies de eucaliptos que têm seus óleos essenciais (metabólitos secundários) comercializados são *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus staigeriana* (*Myrtaceae*). Em estudo desenvolvido por Chagas et al. (2002), constatou-se que o óleo essencial de *E. citriodora* e *E. staigeriana* mataram 100% das larvas do carrapato dos bovinos a uma concentração de 10%. No caso de fêmeas ingurgitadas, o óleo essencial de *E. citriodora* teve eficácia máxima na concentração de 25%. Clemente et al. (2010), testaram as concentrações de 50; 25; 12,5 e 6,25% do óleo essencial de *E. citriodora* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas do carrapato dos bovinos e a eficácia foi de 93,9; 80,2; 72,2 e 49,6 e de 88,4; 22,2; 0 e 0, para fêmeas ingurgitadas e larvas, respectivamente.

Segundo Silva et al. (2007), tanto para a espécie *R. sanguineus* quanto para *R. microplus*, o capim santo foi estatisticamente superior em relação ao neem sobre fêmeas ingurgitadas, demonstrando estas uma baixa eficiência reprodutiva. Essa redução ocorreu provavelmente pela capacidade desta planta em interferir na oviposição e fecundação das fêmeas ingurgitadas. O extrato de neem já foi avaliado em campo por Weeb & David (2002), que chegaram a conclusão que este representa uma alternativa em potencial para o controle de diversas espécies de carrapatos. O neem (*Azadirachta indica*) (*Meliaceae*) pode se tornar importante para o controle, pois tem largo espectro de ação, não tem ação fitotóxica, sendo praticamente atóxica ao homem e não agride o meio ambiente. Em várias partes do mundo trabalhos com *A. indica* tem demonstrado ação repelente contra várias espécies de artrópodes (SABER et al., 2004; BARNARD; XUE, 2004). O capim santo (*Cymbopogon citratus*) (*Poaceae*) rico em citronelal, também é uma

alternativa, devido a comprovação de atividades anti-helmíntica, antibacteriana, antifúngica, inseticida, diurética e anticarcinogênica (RAJAPAKSE; VANEMDEN, 1997; SCHUCK et al., 2001; CIMANGA et al., 2002; PUATANACHOKCHAI et al., 2002). Outro exemplo é *Cymbopogon nardus* uma substância que também é rica em citronelal. Tal substância foi avaliada por Olivo et al. (2008), onde foram utilizadas fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, foram feitos dois experimentos com sete (0; 0,5; 1,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0%) e nove (0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100%) concentrações, com os seguintes resultados respectivamente (0; 44,2; 92,1; 85,6; 87,8; 87,0; 88,9) e (0,7; 2,8; 51,6; 79,3; 81,0; 87,1; 86,7; 89,5%), demonstrando assim que o óleo de citronela utilizado nesse estudo apresenta atividade acaricida, sendo assim *C.nardus* pode ser considerado como mais uma alternativa no combate contra esses carrapatos. Um estudo realizado por Martins (2006) utilizando *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Citronela de Java) em fêmeas ingurgitadas e larvas de *B.microplus*, avaliando a mortalidade como também a postura e a eclosão das larvas. Foi observado que em diferentes concentrações dessa substância obtiveram mortalidade tanto para larvas quanto para teleóginas, inibindo também a postura e a eclosão das larvas.

Outro exemplo é a utilização do timbó, com registros na literatura de êxitos no controle de ectoparasitos de animais de interesse zootécnico (PEREIRA; FAMADAS, 2004). No trabalho realizado por Pereira & Famadas (2004) foi testada a eficiência de extratos das raízes de *Dahlstedtia pentaphilla* (Leguminosae, Papilionoideae, Milliettiaceae) sobre *B.microplus*, comprovando que a substância causa mortalidade. A mortalidade das fêmeas ingurgitadas expostas a extratos de plantas com propriedades carrapaticidas varia de acordo com a espécie de planta, solventes utilizados para a extração e concentração do extrato.

2.4 Controle de diferentes pragas utilizando o timol

A maioria das plantas produz compostos tóxicos e defensivos, e os metabólitos secundários de plantas têm sido utilizados como pesticidas ou modelos para pesticidas sintéticos, como o toxafeno, piretrinas, nicotina e a rotenona. Os monoterpenos (terpenóides) são metabólitos secundários das plantas, isto é, aquelas não utilizadas para o metabolismo, mas para outros propósitos,

principalmente defesa. Esses compostos interferem nos ciclos metabólicos ou processos fisiológicos que podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos herbívoros (RICKLEFS, 1983). No entanto, a maioria dos monoterpenos é pouco tóxica (dentro das primeiras 72h depois da aplicação) para os mamíferos. Alguns monoterpenos têm sido considerados alternativas em potencial aos inseticidas comerciais sintéticos, Demonstrando a ausência de toxidez para alguns deles, vem, sendo utilizados em muitos produtos de uso humano como: condimentos artificiais, perfumes e em inúmeras formulações de expectorantes, descongestionantes, analgésicos externos e anti-sépticos (CHAGAS et al., 2002).

É um exemplo de terpeno o timol (=5metil-2-isopropil-1fenol), com sua eficácia comprovada contra pragas. Essa substância é um monoterpenóide volátil, refringente, de odor característico, comum em um grande número de plantas aromáticas (BUDAVARI, 1989). Estudos com timol contra o ácaro *Acarapis woodi* Rennie, 1921 têm mostrado o potencial tóxico de tal substância, sem causar danos significantes às abelhas (HIGES; LLORENT, 1996). Sua atividade acaricida também foi demonstrada por Castagnino (2008) sobre infestação de ácaros *Varroa destructor* em colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, onde foi avaliado os efeitos do timol em relação à mortalidade tanto dos ácaros quanto das abelhas. Foi observado que o timol promoveu a mortalidade do ácaro a partir de 10 µL, reduzindo a mortalidade de crias quando parasitadas pelo ácaro e na infestação de *V. destructor* em crias. A atividade inseticida também merece ser destacada: a utilização do timol foi demonstrada sobre *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) por Mansour et al. (2000). Esses autores observaram que o timol apresentava efeito sinérgico com o malation, um inseticida comercial do grupo dos organofosforados. O timol também demonstrou atividade inseticida sobre larvas de quarto instar desse inseto (TRABOULSI et al., 2002).

Além das atividades acaricidas e inseticidas deste monoterpeno, sua atividade moluscida também pode ser destacada. O estudo realizado por Ferreira et al. (2009) no qual foi observado o efeito do timol sobre a eclodibilidade, sobrevivência após eclosão, crescimento e a reprodução do molusco terrestre *Subulina octona* (Brugüière, 1789), demonstrou que o timol (5g/L e 2,5g/L) atuou como ovicida, inibindo a eclosão em 98%. O timol também demonstrou eficácia na

mortalidade de jovens de 10 dias de vida deste molusco, onde foi observado uma mortalidade de 20 e 22,5% nos tratamentos de 5g/L e 2,5g/L respectivamente.

2.5 Atividade carrapaticida do Timol

A utilização de carrapaticidas sintéticos é o modo tradicional de controle de ixodídeos, entretanto já existem diversos relatos de populações de algumas espécies resistentes a diferentes bases químicas disponíveis no mercado (MILLER et al., 2001; MARTINS et al., 2006; BORGES et al., 2001). Somado ao problema da resistência, existe crescente demanda por busca de novas alternativas no controle de pragas, visando à utilização mínima de químicos, com intuito de diminuir a quantidade de resíduos no ambiente (BALADRIN et al., 1985; CHAGAS, 2004).

O efeito carrapaticida do timol só foi demonstrado recentemente por NOVELINO et al. (2007a) que demonstraram que a concentração de 1% de timol foi capaz de causar mortalidade de 100% em larvas de *R. (B.) microplus*. DAEMON et al. (2009) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de timol sobre larvas não ingurgitadas e ingurgitadas de *R. sanguineus*, e constaram que a concentração de 2,0% resultou na mortalidade de 37 % e 100% das larvas não ingurgitadas e ingurgitadas, respectivamente. A eficiência do timol também foi demonstrada nos estágios de ninfas e fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* por Monteiro et al. (2009), onde foi observado que os grupo tratados com as concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% resultaram em mortalidade de 100% diferindo significativamente ($p < 0.01$) do grupo de controle para ninfas ingurgitadas. Para fêmeas a concentração que apresentou melhor eficiência foi a de 2,0%.

SEÇÃO I

Atividade carrapaticida e ovicida do timol sobre fêmeas ingurgitadas e ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI, IXODIDAE).

RESUMO

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a influência de diferentes concentrações de timol sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e também sua atividade sobre ovos deste carrapato. Para realização do primeiro experimento foram formados quatro grupos, contendo cada um 20 fêmeas ingurgitadas, as quais foram imersas por 5 minutos em diferentes concentrações de timol (1,0%, 1,5%, e 2,0%) e um grupo de controle (água + DMSO 1%). Os seguintes aspectos biológicos foram avaliados: peso inicial (mg); peso de massa de ovo (mg); período de pré-postura (dias), período de postura (dias), período de sobrevivência (dias); percentual de eclosão de larvas; índice de produção de ovos (IPO), índice nutricional (IN) e eficácia do tratamento. No segundo experimento, foram borrifadas soluções de timol sobre as massas de ovos (50 mg), sendo formado 3 grupos, cada um tratado com uma concentração de timol (1,0, 1,5 e 2,0%), e um grupo controle (água+DMSO 1%). Para cada grupo foram feitas 10 repetições e o percentual de eclosão de larvas foi avaliado após 21 dias. As médias de peso das fêmeas antes da postura e período de pré-postura não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos como esperado. As diferentes concentrações de timol causaram alterações nos parâmetros peso da massa de ovos, período de postura, período de sobrevivência, percentual de eclosão de larvas, índice de produção de ovos (IPO) e índice nutricional (IN), sendo constatadas diferenças significativas entre os grupos tratados e o controle ($p<0,01$). A eficácia de controle foi superior a 95% em todos os tratamentos, chegando a 99% na concentração de 2,0% de timol. No segundo experimento, o percentual de eclosão de larvas não foi afetado em nenhum dos tratamentos ($p>0,05$). Estes resultados demonstram que o timol possui ação carrapaticida sobre a maioria dos parâmetros analisados das fêmeas ingurgitadas, entretanto, o mesmo não foi observado em relação aos ovos, uma vez que o percentual de eclosão não foi afetado.

Palavras-chave: carrapato dos bovinos; controle alternativo; *Thymus* sp.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista econômico, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1888) (ACARI, IXODIDAE) conhecido como carrapatos dos bovinos é o mais importante da região Neotropical e um dos mais importantes do mundo (WALKER et al., 2003; MARTINS et al., 2006; JONSSON; PIPER 2007). No Brasil, baseado em estimativas atuais, as perdas econômicas causadas por este ixodídeo chegam a dois bilhões dólares por ano (GRISI et al., 2002).

A utilização de carrapaticidas é o principal meio de controle deste parasito, porém, a maioria dos produtores não tem conhecimento sobre aspectos importantes da biologia deste carrapato, suas interações ecológicas com o hospedeiro e ambiente e sobre métodos seguros e adequados para manusear os equipamentos usados no tratamento dos animais (FURLONG et al., 2004; LABRUNA, 2008). Deste modo, os resultados esperados no combate contra esse artrópode não são obtidos, assim o produtor começa a executar com maior frequência o tratamento dos animais, seguido de troca indiscriminada de acaricidas (MARTINS et al., 2006; FURLONG et al., 2007). Com isso, o uso excessivo de carrapaticidas, sem se compreender aspectos sobre a epidemiologia do carrapato dos bovinos, somado às falhas na detecção de resistência, levou a seleção de carrapatos resistentes a quase todas as bases químicas presentes no mercado (FURLONG et al., 2007).

O uso de substâncias extraídas de plantas se tornou uma alternativa entre a comunidade científica devido às inúmeras vantagens, quando comparada ao uso de substâncias tradicionais: inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis, se degradam rapidamente, deixam poucos resíduos no alimento e ambiente e sua utilização pode diminuir o custo de produção (BALADRIN et al., 1985; CHAGAS, 2004).

Levando em conta os efeitos nocivos causado pelo parasitismo do carrapato bovino e a séria realidade sobre a resistência aos acaricidas químicos, como também a pressão que o mercado de produtos livre de resíduos impõe, pesquisas têm sido realizadas, com o objetivo de avaliar a eficácia do timol, um monoterpenóide encontrado em algumas espécies de plantas da família *Lamiacea*, utilizado em estudos para controle do carrapato dos bovinos e de outras espécies de ixodídeos de importância econômica. Este monoterpeno já teve seu potencial inseticida, bactericida, fungicida, e moluscida comprovado por diferentes autores

(IMDORF et al., 1995; MANSOUR et al., 2000; FERREIRA et al., 2009), entretanto sua atividade carrapaticida só foi demonstrada recentemente para larvas não ingurgitadas do carrapato dos bovinos (NOVELINO et al. 2007 a, b) e para larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1906) (Acari: Ixodidae) (DAEMON et al., 2009; MONTEIRO et al., 2009). Sua atividade repelente sobre larvas da espécie de carrapato bovino, também foi demonstrada por Novelino et al. (2007b). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de diferentes concentrações de timol sobre parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* e também sua atividade sobre ovos desse carrapato.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos, situado no Laboratório Avançado de Zoologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. Para a realização do trabalho, foi utilizada uma população de *R. (B.) microplus* com diferentes graus de resistência às bases químicas comerciais, originada do município de Campina Verde, Minas Gerais, cedida pelo Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Devido à baixa solubilidade em água, com a utilização de uma placa aquecedora, as soluções de timol foram emulsionadas sob aquecimento (60°C) em dimetilsulfóxido aquoso (DMSO 1%) (Figura 1).



Figura 1 - Timol sendo emulsionado com auxílio de placa aquecedora. Arquivo do autor.

Experimento 1

Para a execução desse experimento, 80 fêmeas foram pesadas e separadas em quatro grupos (cada fêmea uma repetição), e então submetidas à imersão por 5 minutos em solução de timol comercial à 10% de pureza nas concentrações de 1,0%, 1,5%, e 2,0%, de acordo com Drummond et al. (1973), sendo formado também grupo controle (água + DMSO 1%). Após a imersão, com auxílio de fita adesiva, as fêmeas ingurgitadas foram fixadas em decúbito dorsal, em placas de Petri devidamente identificadas (Figura 2) e acondicionadas em estufa climatizada a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$ para verificação dos seguintes parâmetros: peso inicial (mg); peso de massa de ovos (mg); período de pré-postura (dias), período de postura (dias), período de sobrevivência (dias); percentual de eclosão de larvas; índice de produção de ovos (IPO) (BENNETT, 1974), índice nutricional (IN) (BENNETT, 1974) e eficácia de tratamento (DRUMMOND et al., 1973).

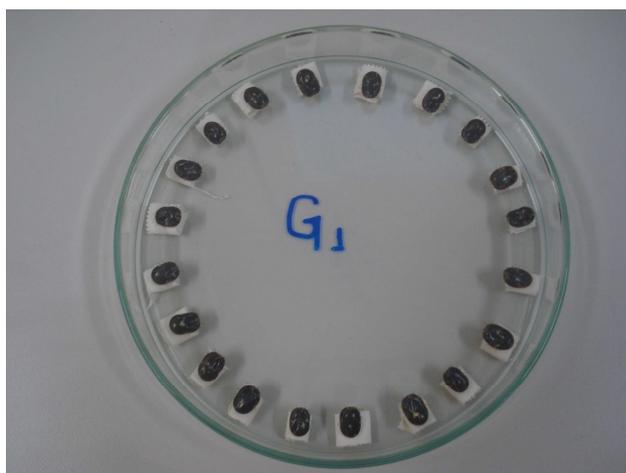


Figura 2 – Fêmeas ingurgitadas *R. (B.) microplus* fixadas com auxílio de fita adesiva em placa de Petri. Arquivo do autor.

Experimento 2

Para execução da segunda fase, fêmeas ingurgitadas foram acondicionadas em placas de Petri, em grupos de cinco, e mantidas em estufa climatizada a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$. O processo de postura foi verificado diariamente para identificar a data inicial, e depois de quatro dias, as massas de ovos foram pesadas, divididas em alíquotas de 50 mg e colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro (Figura 3) (cada alíquota = uma unidade experimental), sendo formado 4 grupos, cada um com dez repetições.

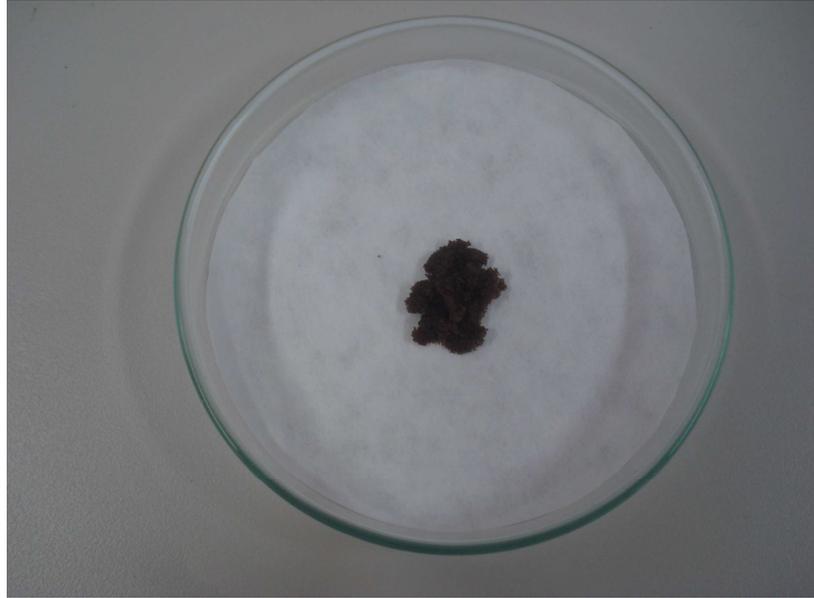


Figura 3 – Massa de ovos de *R. (B.) microplus* em placa de Petri forrada com papel de filtro. Arquivo do autor.

Na seqüência, soluções de timol (1,5 ml) nas concentrações de 1,0%, 1,5%, e 2,0%, e o controle (água+DMSO 1%) foram borrifadas sobre massas de ovos. Depois de 10 minutos, as massas de ovos foram colocadas em tubos de ensaio devidamente identificados, vedados com algodão hidrófilo (Figura 4) e acondicionados em câmara climatizada, sob as mesmas condições citadas anteriormente. Após 21 dias, foi avaliado o percentual de eclosão de larvas.



Figura 4 – Massa de ovos de *R. (B.) microplus* em tubo de ensaio. Arquivo do autor.

Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o software Biostat versão 5.0. Os valores adquiridos em porcentagem foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno de } x}$. Os valores referentes às médias de cada parâmetro dos diferentes grupos foram analisados por ANOVA e Teste de Tukey ($p < 0,05$). No caso de distribuição não paramétrica, os valores foram comparados pelos testes de Kruskal Wallis e Student Newman Keulls ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os resultados do primeiro experimento estão representados nas Tabelas 1 e 2 e Figura 5. Não foram constatadas diferenças significativas nas médias de peso inicial entre os diferentes tratamentos ($p > 0,05$). Em relação aos parâmetros peso da massa de ovos, IPO e IN, os valores obtidos para os grupos tratados com as concentrações de 1,0%, 1,5% e 2,0% variaram de 12,72 a 16,62 mg, 17,32 a 18,42% e 24,72 a 25,15%, respectivamente, apresentando diferença significativa ($p < 0,01$) em relação ao do grupo controle (119,82 mg, 59,16%, e 74,16%) (Tabela 1).

Tabela 1 – Peso antes do início da postura, peso de massa de ovos, índices de produção de ovos (%IPO), e nutricional (%IN) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes concentrações de timol em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80 10%).

Tratamentos	Peso inicial (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Índice de produção de ovos (%)	Índice nutricional (%)
Controle (água + DMSO 1%)	204,05 ^a ±35,43 (18)	119,82 ^a ±19,62 (18)	59,16 ^a ±7,51 (18)	74,16 ^a ±10,88 (18)
Timol 1.0 %	202,56 ^a ±23,84 (20)	16,62 ^b ±28,36 (20)	17,32 ^b ±16,13 (9)	24,72 ^b ±20,81 (9)
Timol 1.5 %	204,20 ^a ±26,64 (20)	14,67 ^b ±24,11 (20)	16,53 ^b ±13,51 (9)	26,52 ^b ±18,42 (9)
Timol 2.0%	201,09 ^a ±33,79 (20)	12,72 ^b ±29,33 (20)	18,42 ^b ±17,24 (7)	25,15 ^b ±23,06 (6)
Teste estatístico	ANOVA	ANOVA/Tukey	Kruskal– Wallis/Student– Newman–Keuls	ANOVA/Tukey

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%. (...) – tamanho da amostra.

Os períodos de pré-postura dos grupos tratados não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle ($p>0,05$). Entretanto, os períodos de postura e sobrevivência dos grupos tratados variaram de 4,50 a 5,50 dias e de 11,10 a 13,50 dias, sendo constatadas diferenças significativas ($p<0,01$) dos valores obtidos para o grupo controle (13,89 e 17,44 dias). O percentual de eclosão de larvas nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% de timol foram de 12,44; 11,60 e 11,33%, respectivamente, apresentando diferenças significativas ($p<0,01$) em relação aos valores obtidos para o grupo controle (91,64%).

A melhor eficácia de tratamento foi de 99%, obtida com a concentração de 2,0% de timol; nas demais concentrações (1,0% e 1,5%) a eficácia foi 98%. Cabe destacar que a eficácia foi superior a 95% em todos os tratamentos.

Os dados referentes ao segundo experimento são apresentados na Tabela 3. O percentual de eclosão das larvas dos grupos tratados variou de 93,8% a 95,3%, sendo estatisticamente semelhante ($p>0,05$) ao valor obtido para o grupo controle (96,3%).

Tabela 2 – Período de pré-postura, período de postura, período de sobrevivência, e percentual de eclosão de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes concentrações de timol em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80 10%).

Tratamentos	Pré - postura	Período de postura	Período de sobrevivência	Eclosão (%)
Controle (água + DMSO 1%)	2,00 ^a ±0,00 (18)	13,89 ^a ±1,41 (18)	17,44 ^a ±4,23 (18)	91,64 ^a ±9,08 (18)
Timol 1.0 %	2,55 ^a ±1,33 (9)	4,50 ^b ±2,50 (8)	13,10 ^b ±5,43 (20)	12,44 ^b ±26,11 (9)
Timol 1.5 %	2,30 ^a ±0,67 (9)	4,75 ^b ±3,01 (8)	11,55 ^b ±3,74 (20)	11,60 ^b ±25,74 (9)
Timol 2.0%	2,33 ^a ±0,81 (6)	5,50 ^b ±3,51 (6)	11,50 ^b ±4,99 (20)	11,33 ^b ±26,31 (6)
Teste estatístico	Kruskal–Wallis	ANOVA/Tukey	ANOVA/Tukey	Kruskal–Wallis/Student–Newman–Keuls

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%. (...) – tamanho da amostra.

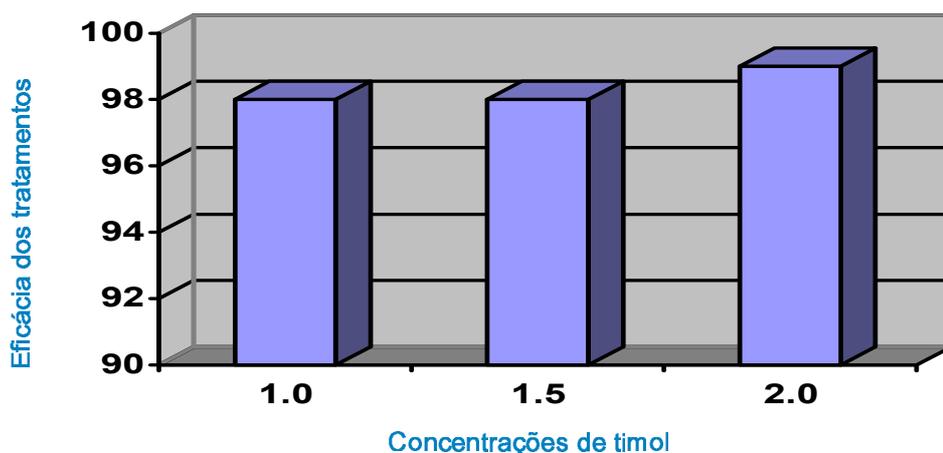


Figura 5 - Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratados com concentrações diferentes de timol em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80%).

Tabela 3 – Percentual de eclosão de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* que originaram de ovos tratados com concentrações diferentes de timol em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80%).

Tratamentos	Controle (água + DMSO 1%)	Timol 1.0 %	Timol 1.5 %	Timol 2.0%
Eclosão (%)	96,3 ^a ± 2,4 (10)	94,0 ^a ± 5,9 (10)	95,3 ^a ± 6,0 (10)	93,8 ^a ± 4,2 (10)

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%. (...) – tamanho da amostra.

DISCUSSÃO

Existe uma correlação entre o peso da fêmea antes da postura e os parâmetros referentes a esse processo (BORGES et al., 2001; SANTOS, FURLONG, 2002). A inexistência de diferença estatística entre o peso inicial de fêmeas ingurgitadas dos diferentes grupos evidencia que as alterações nos outros parâmetros analisados estão relacionadas com a ação do timol (Tabela 1).

A maioria dos parâmetros analisados foi afetada pela ação do timol. Os valores referentes ao peso da massa de ovos, IPO e IN obtidos para os grupos tratados foram inferiores aos observados para fêmeas do grupo controle, demonstrando que esse monoterpene apresentou ação carrapaticida sobre o processo de oviposição, interferindo no processo de conversão de sangue ingerido

em ovos (Tabela 1). Monteiro et al. (2009) avaliaram a atividade carrapaticida de diferentes concentrações de timol (0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5%; e 2,0%) sobre fêmeas de *R. sanguineus* e constataram que o peso de massa de ovos, IPO e IN não foram afetados em nenhum dos tratamentos.

Assim como foi observado por Monteiro et al., (2009), o uso de diferentes concentrações de timol não causou alterações durante o período de pré-postura (Tabela 2) dos diferentes grupos, demonstrando que este monoterpene aparentemente não interfere no início do processo de oviposição. No presente estudo, períodos de postura e de sobrevivência das fêmeas de todos os grupos tratados foram afetados, porém, a redução do período de postura foi mais acentuada (Tabela 2), sendo observado que muitas fêmeas continuavam vivas, mas não produziam ovos. Esses parâmetros não foram analisados por Monteiro et al., (2009), portanto uma comparação com tal estudo não pode ser realizada.

No primeiro experimento, os percentuais de eclosão de larvas de todos os grupos tratados foram afetados, apresentando valores inferiores ao encontrados para o grupo controle (Tabela 2), fato que não foi observado no estudo realizado por Monteiro et al., (2009). Entretanto, no segundo experimento, quando os ovos foram tratados diretamente, o timol não afetou significativamente esse parâmetro, nos quais valores semelhantes para o percentual de eclosão tanto nos tratamentos quanto no grupo controle foram observados (Tabela 3). Deste modo, pode-se deduzir que o timol não apresentou ação ovicida sobre a incubação dos ovos, mas sim sobre o processo de oviposição e/ou processos embrionários, o que pode gerar ovos inviáveis (PEREIRA; LABRUNA, 2008). Para melhor compreensão do real efeito do timol sobre a viabilidade dos ovos de *R. microplus*, é necessário a realização de estudos contendo análises histológicas das estruturas envolvidas neste processo.

A eficácia de tratamento obtida na concentração de 1,0% de timol foi de 98% (Tabela 1), resultado superior ao alcançado por Monteiro et al. (2009), onde a maior eficácia para *R. sanguineus* foi de 41%, obtida na concentração 2,0% de timol. Estudos anteriores evidenciaram que larvas não ingurgitadas de carrapatos de bovinos foram mais sensíveis ao efeito do timol do que larvas de *R. sanguineus* (NOVELINO et al., 2007a; DAEMON et al., 2009), isso também é evidenciado em relação a fêmeas ingurgitadas desse ixodídeo, uma vez que a menor concentração de timol utilizada no presente trabalho resultou em um controle mais eficaz do que a

obtida com o uso de maior concentração (2,0%) para *R. sanguineus*. Com base nos dados obtidos no presente trabalho, somados aos resultados encontrados por Monteiro et al. (2010), conclui-se o mesmo em relação a fêmeas ingurgitadas dessas duas espécies de ixodídeos. Pelo fato de ser originário de regiões xéricas, *R. sanguineus* poderia apresentar maior resistência, devido a maior impermeabilidade de cutícula (DAEMON et al., 2009).

De acordo com os resultados encontrados no presente estudo, somado a outros trabalhos desenvolvidos por esse grupo de pesquisa (NOVELINO et al., 2007a, b) é possível concluir que o timol possui atividade carrapaticida sobre diferentes estágios de *R. microplus* (larvas não ingurgitadas e teleóginas) e atividade repelente sobre larvas não ingurgitadas. Uma vez que a maioria dos carrapaticidas comerciais apresenta eficácia abaixo de 70% (FURLONG et al., 2007), o timol pode ser considerado como uma alternativa promissora a ser utilizada no controle do carrapato dos bovinos no futuro.

REFERÊNCIAS

- Baladrin N.F, Klocke J.A, Wurtle E.S, Bollinger W.H. Natural 259 plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science** 228:1154–1660, 1985.
- Bennett G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae): influence of tick size on egg production. **Acarology** 16:52–61, 1974.
- Borges L.M.F, Carneiro J.R, Gomes A.G, Moreira P.C. Influência do peso inicial e da estação do ano na conversão em ovos de fêmeas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Ciência Animal**, 2001.
- Chagas A.C.S, Daemon E, Monteiro C.M.O, Rosa L.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:156–160 **Bras** 2:127–131, 2004.
- 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** 105: 495–497, 2009.
- Drummond R.O, Ernest S.E, Trevino J.L, Gradney W.J, Graham O.H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal Econ Entomology** 66:30–133, 1973.
- Ferreira P, Soares G.L.G, D'avila S, ECA BESSA. The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (BRUGÜIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE). **Brazilian Archives Biology and Technology** 52(4):945–952, 2009.
- Furlong J, Martins J.R.S, Prata M.C.A. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária** 23:53–56, 2004.
- Furlong J; Martins J.R.S, Prata M.C.A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária** 27:53–56, 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** 21:8–10, 2002.
- Imdorf A, Kilchenman V, Bogdanov S. Toxiziät von thymol; campher, menthol and eucaliptol auf *Varroa jacobsoni* oud ind *Apis mellifera* L. in labortest. **Apidol** 26:27–31, 1995.
- Jonsson N.N, Piper E.K. Integrated control programs for ticks on cattle, **The University of Queensland, Queensland**, 2007.

Labruna M.B. Combate contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Pereira MC, Labruna MB, Szabo MPJ, Klafke GM (eds) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência*. **MEDVET**, São Paulo, pp 57–64, 2008.

Mansour S.A, Messeheha S.S, El-Gengaihi S.E. Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. **Journal National Toxins** 9:49–62, 2000.

Martins J.R.S, Furlong J, Leite R.C. Controle de carrapatos. In: Barros-Battesti DMB, Arzua M, Bechara GH (eds) *Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies*. **Instituto Butantan**, São Paulo, pp 145–153, 2006.

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** 105:1093–1097, 2009.

Monteiro C.M.O, Daemon E, Silva A.M.R, Maturano R, Amaral C.D. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research** 106:615-619, 2010.

Novelino A.M.S, Daemon E, Soares G.L.G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research** 101:809–811, 2007a.

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 Medicina Veterinária e Zootecnia** 59:700–704, 2007b.

Pereira M.C, Labruna M.B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Pereira M.C, Labruna M.B, Szabo M.P.J, Klafke G.M (eds) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência*. **MEDVET**, São Paulo, pp 15–56, 2008.

Santos A.P, Furlong J. Competição intraespecífica em *Boophilus microplus*. **Ciência Rural** 32:1033–1038, 2002.

Walker A.R, Bouarttour A, Camicas J.L, Estrada-Peña A, Horak I, Latif A, Pegram R, Preston P. Ticks of Domestic Animals in Africa. **A Guide to identification of Species**. **University of Edinburgh**, Edinburgh, 2003.

SEÇÃO II

Ação carrapaticida do timol sobre larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (ACARI: IXODIDAE).

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial carrapaticida do timol sobre larvas não ingurgitadas e ingurgitadas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*. Para larvas não ingurgitadas foi realizado o teste de pacote de larvas e a mortalidade foi avaliada 24h após o teste, e para larvas e ninfas ingurgitadas foi utilizado à técnica de imersão e a mortalidade foi avaliada após 15 dias. Em todos os experimentos, foram testadas as seguintes concentrações de timol: 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%, sendo formado também um grupo controle (água+DMSO 1%), tendo todos os tratamentos 10 repetições cada. Os valores referentes à mortalidade de larvas não ingurgitadas foram de 18,2%; 51,8%; 97,6%; 93,5%; 94,5% e para ninfas ingurgitadas foi de 26,0%; 92,2%; 100,0%; 100,0%; 100,0% nas concentrações de 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%, respectivamente. No teste com larvas ingurgitadas a mortalidade foi de 100,0% em todos os tratamentos. Com base nos resultados é possível concluir que o timol apresentou atividade deletéria sobre imaturos de *A. cajennense*, sendo as larvas e ninfas ingurgitadas mais susceptíveis do que larvas não ingurgitadas.

Palavras chave – carrapato estrela, monoterpeneo, *Thymus* sp.

INTRODUÇÃO

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (ACARI: IXODIDAE), conhecido vulgarmente como carrapato estrela em sua fase adulta, tem distribuição geográfica restrita ao continente americano, apresentando ampla distribuição no Brasil (OLIVEIRA, 2004; GULGLIELMONE et al., 2006). Apesar de ter equinos como hospedeiro preferencial, devido a sua baixa especificidade parasitária, também pode ser encontrado parasitando outros animais como cervídeos, bovídeos, cães domésticos, roedores e aves silvestres (GUIMARÃES et al., 2001; SOUZA et al., 2004; MARTINS et al., 2004; LABRUNA, 2006, LABRUNA et al., 2007).

Esse ectoparasito pode se fixar em diversas áreas do corpo do animal, causando injúrias e atuando na transmissão de agentes patogênicos (OLIVEIRA et al., 2004; PRATA, 2005). *A. cajennense* também assume importante papel na saúde pública, sendo a principal espécie que parasita o homem na região Neotropical e incriminado como vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa, no Brasil, México, Panamá e Colômbia (GUEDES et al., 2005; LABRUNA 2006; GULGLIELMONE et al., 2006).

O uso de carrapaticidas químicos ainda é o método predominante utilizado no controle deste ixodídeo (MARTINS et al., 2006), entretanto já existem populações desse carrapato que podem ser classificadas no “*status*” de possível resistência aos carrapaticidas segundo as normas definidas pela OMS (FREITAS et al., 2010). Além dos problemas relacionados com a possível resistência de algumas populações desse ixodídeo, também devemos destacar que esses carrapaticidas utilizados de maneira indiscriminada e sem critérios técnicos, podem deixar resíduos no ambiente e causar a intoxicação de animais e do homem. Dessa forma, torna-se necessária a busca de novas alternativas que sejam eficientes e possuam menor toxidez para serem utilizadas no controle deste artrópode (BITTENCOURT et al., 1997; CHAGAS 2004). Devido à demanda por novas alternativas no controle de carrapatos, tem se intensificado o número de pesquisas que buscam avaliar o potencial carrapaticida de produtos de origem vegetal, ou de novas moléculas sintetizadas a partir desses produtos: CHAGAS et al., 2002; CHAGAS 2004; FERNANDES E FREITAS 2007; RIBEIRO et al., 2008; GOSKUN et al., 2008; SOUSA et al., 2008; FERRARINI et al., 2008; SOARES et al., 2009; APEL et al., 2009.

Com intuito de avaliar o potencial do timol (um monoterpene derivado de algumas plantas da família Lamiaceae) sobre diferentes espécies de ixodídeos. Novelino et al. (2007a) utilizando diferentes concentrações de timol, observaram que a concentração de 1% apresentou eficácias de 100% sobre larvas do carrapato dos bovinos. Novelino et al. (2007b) demonstraram que o timol também possui atividade repelente sobre esse mesmo ixodídeo. A atividade carrapaticida desse monoterpene também foi demonstrada sobre larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (ACARI: IXODIDAE), (DAEMON et al., 2009; MONTEIRO et al., 2010). Com isso, o presente trabalho teve como objetivo dar continuidade a essa linha de pesquisa e avaliar a atividade carrapaticida de diferentes concentrações do timol sobre larvas ingurgitadas e não ingurgitadas e ninfas ingurgitadas de *A. cajennense*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Artrópodes Parasitos localizado no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. O timol foi obtido na forma de cristais junto a Farmácia Animal LTDA, Juiz de Fora, MG, Brasil. Por ter baixa solubilidade em água, com a utilização de placa aquecedora, o timol foi emulsificado sob aquecimento a 60°C em água e dimetilsulfóxido (DMSO 1%).

Para obtenção das larvas, fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* foram coletadas de equinos naturalmente infestados e sem histórico de contato recente com carrapaticidas, em diferentes bairros do município de Juiz de Fora. Essas fêmeas foram levadas para o laboratório e acondicionadas em câmara climatizada (27 ± 1 ° C e UR > $80 \pm 10\%$) para realização de postura.

Após o fim desse processo, os ovos foram coletados e acondicionados em seringas plástica com extremidade distal cortada e vedadas com algodão hidrófilo, e mantidos sobre as mesmas condições de temperatura e umidade citada anteriormente para a obtenção das larvas não ingurgitadas. As larvas e ninfas ingurgitadas foram obtidas através de infestações artificiais em coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L.), mestiços Califórnia x Nova Zelândia, de acordo com metodologia proposta por Neitz et al. (1971) (Figura 1). De acordo com essa metodologia foi colocada uma touca de tecido (brim) fixada ao redor das orelhas do coelho, vedados

com pasta Unna (cola atóxica); após a solidificação da pasta, foi utilizado esparadrapo para reforçar a vedação. Estas toucas possuem abertura na extremidade distal, por onde foram colocadas as larvas e ninfas para alimentação. Após a infestação esta extremidade foi costurada e fechada com esparadrapo, e após o período de ingurgitamento de cada estágio, as toucas foram abertas e retiradas e os carrapatos coletados.



Figura 1 - Coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L.), mestiços Califórnia x Nova Zelândia, Infestado com larvas de *A. cajennense*. Arquivo do autor.

Experimento I

Foram utilizadas as concentrações de 0.25%; 0.5%; 1.0%; 1.5%; 2.0% de timol, sendo formado também um grupo controle (água+DMSO 1%), tendo cada tratamento 10 repetições. Para realizar o teste de larvas não ingurgitadas, foi empregada a técnica de pacote de larvas proposta por Stone & Haydoc (1962), adaptada por Leite (1988). Para tanto, cerca de 100 larvas foram colocadas em papéis de filtro (2 x 2 cm) impregnados com as concentrações a serem testadas e em sequência, os envelopes foram fechados dentro de papéis de filtro com dimensões de 6 x 6 cm, com extremidades vedadas com auxílio de pregadores e acondicionado em câmara climatizada (27 ± 1 ° C e UR > $80 \pm 10\%$) (Figura 2/ A-B).

Após 24 horas foi feita a avaliação da mortalidade com a utilização de uma bomba de vácuo com uma pipeta adaptada na extremidade de uma mangueira (Figura 2/ C-D).

A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula:

Percentual de Mortalidade (%) = (total de larvas mortas/total de indivíduos) x 100

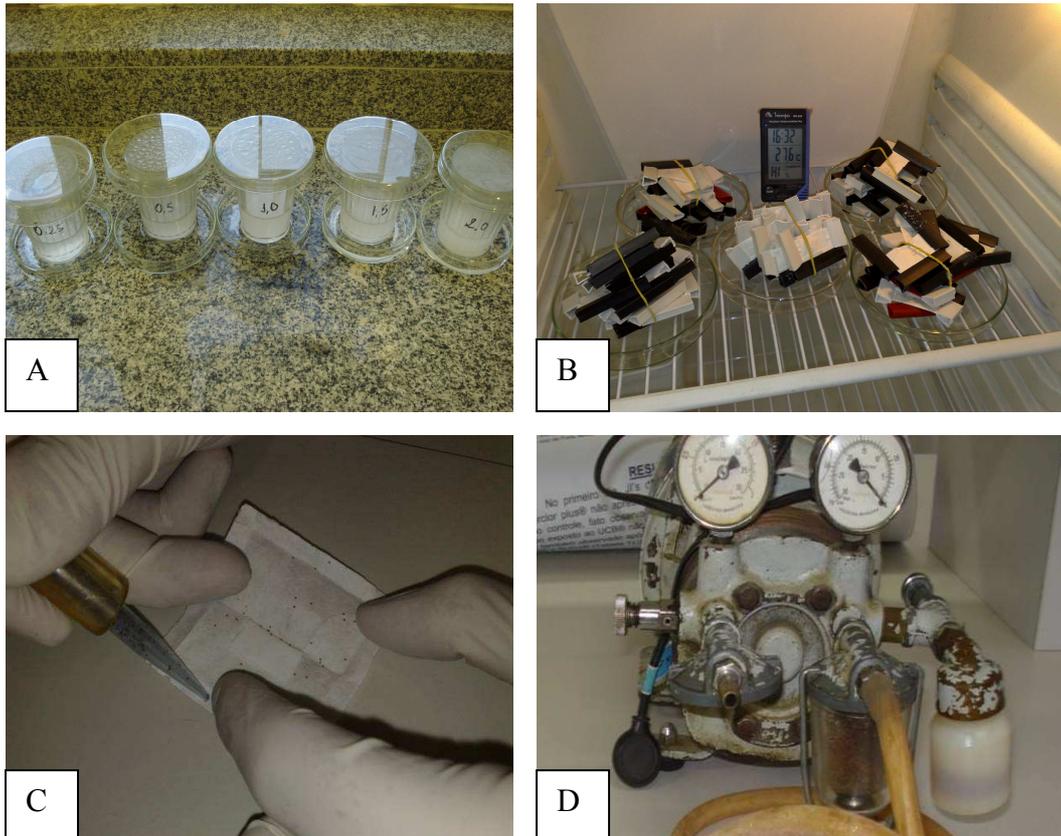


Figura 2- Etapas do experimento. (A) Concentrações de timol utilizadas no experimento; (B) Pacotes de Larvas acondicionados em câmara climatizada; (C) Avaliação da mortalidade de larvas com a utilização de uma bomba de vácuo; (D) Bomba de vácuo. Arquivo do autor.

Experimento II

O procedimento experimental foi baseado na metodologia utilizada por Monteiro et al. (2009). Foram testadas as concentrações de 0.25%; 0.5%; 1.0%; 1.5%; 2.0% de timol, sendo formado também um grupo controle (água + DMSO 1%). Larvas ingurgitadas foram separadas em seis grupos, cada um contendo 100 espécimes e imersas por cinco minutos em soluções aquosas de timol, adaptando a técnica de imersão de fêmeas ingurgitadas descrita por Drummond et al. (1973). Após o período de imersão, cada grupo com 100 larvas foi subdividido em 10 subgrupos (cada subgrupo uma repetição = uma unidade experimental) tendo, cada um, 10 larvas colocadas em tubos de ensaio, vedados com algodão, devidamente identificados e mantidos em estufa climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR} > 80 \pm 10\%$. Após 15 dias, foi feita a avaliação da mortalidade e o percentual foi calculado com a utilização

da seguinte fórmula: Percentual de mortalidade = (total de larvas mortas/total de indivíduos) x 100.

Experimento III

Para o teste com ninfas ingurgitadas foi adotado a mesma metodologia do teste com larvas ingurgitadas. Entretanto, cada unidade experimental foi composta por cinco ninfas.

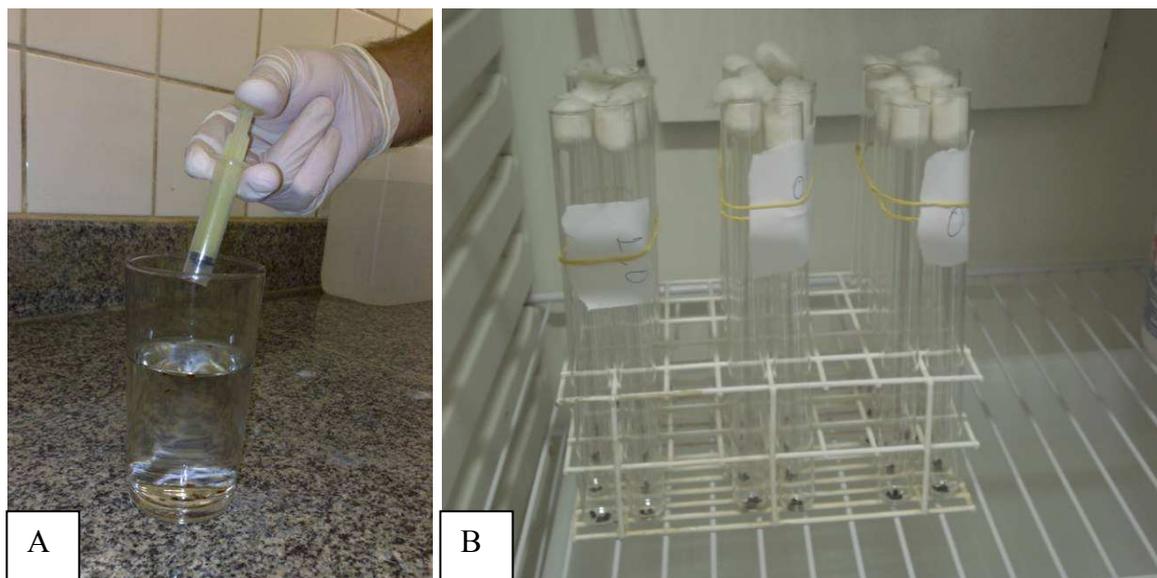


Figura 3 - Etapas dos experimentos II e III. (A) Teste de imersão; (B) Ninfas ingurgitadas em tubos de ensaio mantidos em estufa climatizada. Arquivo do autor.

Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o Software Biostat versão 5.0. Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$. Os valores referentes às médias dos grupos experimentais foram analisados por ANOVA e Teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho são apresentados na Tabela 1. O percentual de mortalidade das larvas não ingurgitadas do grupo tratado com a concentração de 0,25% de timol foi de 18,2%, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao grupo controle (3,1%). Em relação ao grupo tratado com a concentração de 0,5% de timol, a taxa de mortalidade foi de 51,8%, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à testemunha. Cabe

destacar que o percentual de mortalidade de larvas foi superior a 90,0% a partir da concentração de 1,0% apresentando diferenças significativas ($p>0,01$) em relação ao grupo controle e demais grupos tratados. O percentual de mortalidade de larvas dos grupos tratados com as concentrações de 1,0%; 1,5% e 2,0% de timol, não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre si.

Tabela 1 – Percentual de mortalidade de larvas não ingurgitadas e ingurgitadas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de timol e mantidas em condições de laboratório a $27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$.

Tratamentos	Mortalidade média \pm DESVIPAD		
	Larvas não ingurgitadas	Larvas ingurgitadas	Ninfas ingurgitadas
Controle (água + DMSO 1%)	3,1 ^a \pm 2,4	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0
Timol 0.25%	18,2 ^{ab} \pm 6,3	100,0 ^b \pm 0,0	26,0 ^a \pm 19,3
Timol 0.5%	51,8 ^b \pm 2,6	100,0 ^b \pm 0,0	92,2 ^b \pm 10,5
Timol 1.0 %	97,6 ^c \pm 3,4	100,0 ^b \pm 0,0	100,0 ^b \pm 0,0
Timol 1.5 %	93,5 ^c \pm 9,2	100,0 ^b \pm 0,0	100,0 ^b \pm 0,0
Timol 2.0%	94,5 ^c \pm 5,9	100,0 ^b \pm 0,0	100,0 ^b \pm 0,0

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

Em relação a larvas ingurgitadas, a mortalidade chegou a 100% em todos os tratamentos, evidenciando diferenças significativas ($p<0,01$) entre os grupos tratados e o grupo controle. Para ninfas ingurgitadas, a mortalidade do grupo tratado com timol na concentração de 0,25% foi de 26,0%, não diferindo estatisticamente ($p>0,05$) do controle. Em todos os demais tratamentos a mortalidade foi superior a 90,0%, chegando em 100,0% nas concentrações de 1,0%; 1,5% e 2,0% de timol, sendo constatada diferenças significativas ($p<0,01$) em relação a testemunha.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que, além da ação deletéria para outros organismos como bactérias, fungos, insetos, ácaros e diferentes espécies de carrapatos (IMDORF et al.1995; MANSOUR et al. 2000;

FERREIRA et al. 2009; NOVELINO et al. 2009; DAEMON et al. 2009; MONTEIRO et al. 2009; MONTEIRO et al. 2010), o timol também apresenta sobre imaturos de *A. cajennense*.

No teste com larvas não ingurgitadas a mortalidade foi superior a 90% a partir da concentração de 1,0% de timol. Esses resultados foram superiores aos encontrados por Daemon et al. (2009), que testando as mesmas concentrações de timol sobre larvas não ingurgitadas de *R. sanguineus* observaram mortalidade máxima de 37% no grupo tratado com timol a 2.0%. Nesse mesmo estudo, a mortalidade de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* chegou a 100% apenas na concentração de 2.0% de timol, enquanto no presente trabalho a concentração de 0.25% já resultou em mortalidade de 100%. A concentração de 0.25% de timol levou a morte de 26% das ninfas ingurgitadas, resultados relativamente superiores ao encontrados por Monteiro et al. (2010) que testando as mesmas concentrações observaram que a mortalidade de ninfas de *R. sanguineus* foi nula na concentração de 0.25%. Esses resultados parecem indicar que imaturos de *A. cajennense* podem ser mais sensíveis ao timol do que imaturos de *R. sanguineus*. Daemon et al. (2009) constataram que larvas de *R. sanguineus* foram mais resistentes ao timol do que larvas de *R. (B.) microplus* (Canestrini, 1888). Esses mesmos autores especularam que *R. sanguineus* poderia possuir cutícula com menor permeabilidade, por ser um carrapato originário de regiões xéricas, e que isso poderia contribuir para tal fato.

Ainda sobre a diferença da ação do timol sobre *A. cajennense* e *R. sanguineus*, é importante destacar que a metodologia de solubilização do timol nesses dois trabalhos foi diferente e que isso pode ter influenciado no resultado final. Nos estudos que avaliaram a atividade carrapaticida do timol sobre larvas ingurgitadas e não ingurgitadas (DAEMON et al., 2009) e ninfas ingurgitadas (MONTEIRO et al., 2009) de *R. sanguineus*, o timol foi solubilizado sob aquecimento em 60°C em banho maria. Esse processo de solubilização é lento e pode levar à perda do princípio ativo por volatilização. No presente trabalho, a solubilização foi feita com a utilização de placa aquecedora, a fim de tornar o processo mais rápido e minimizar a possível perda do princípio ativo. A partir de testes preliminares, realizando a solubilização do timol em banho maria, foi possível observar que a mortalidade de larvas não ingurgitadas de *A. cajennense* foram menores do que as constatadas no presente estudo.

Com base nesses resultados, também é possível concluir que os ínstares ingurgitados (larvas e ninfas) foram mais susceptíveis que as larvas não ingurgitadas, uma vez que a concentração de 0.25% e 0.5% resultou na mortalidade 100 e 92% das larvas e ninfas ingurgitadas, respectivamente. Já para larvas não ingurgitadas, mortalidade superior a 90% foi observada apenas a partir da concentração de 1.0%. Daemon et al. (2009) e Monteiro et al. (2009) constataram o mesmo em relação a larvas e ninfas de *R. sanguineus*.

A maioria dos estudos que avaliam a atividade carrapaticida de produtos de origem vegetal, ou moléculas sintetizadas a partir desses produtos, são feitos sobre *R. microplus*, poucos sendo os estudos que procuram avaliar a atividade dessas substâncias sobre outros carrapatos. O estudo desenvolvido por Clemente et al. (2010) é um dos poucos trabalhos desenvolvidos nessa linha, onde esses autores avaliaram a atividade carrapaticida dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* (Myrtaceae) e *Cymbopogon nardus* (Poaceae) sobre larvas ingurgitadas de *A. cajennense*. A utilização da concentração de 50% dos óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* resultou na mortalidade de 53.1 e 60.0% das larvas, respectivamente. Esses resultados são inferiores aos encontrados no presente estudo, uma vez que a concentração de 1,0% de timol resultou na morte de 97% das larvas de *A. cajennense*, enfatizando assim o potencial de uso comercial do timol como agente controlador de carrapatos.

REFERÊNCIAS

- Apel M. A. Ribeiro V.L.S, Bordignon S.A.L, Henrique, A.T, Von Poser G. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research** DOI 10.1007/s00436-009-1455-4, 2009.
- Bittencourt V.R.E.P. Avaliação da eficácia in vitro de dois isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 6:42-52, 1997.
- Chagas A.C.S, Passos W.M, Prates H.T, Leite R.C, Furlong J, Fortes I.C.P. Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 39:247-253, 2002.
- Chagas A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:156–160, 2004.
- 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** 105: 495–497, 2009.
- Drummond R.O, Ernest S.E, Trevino J.L, Gladney W.J, Graham O.H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory 294 test of insecticides. **Journal Econ. Entomology** 66:130–133, 1973.
- Fernandes F.F, Freitas E.P.S.F. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology** 147:150–154, 2007.
- Ferrarini S.R, Duarte M.O, da Rosa R.G, Rolim V, Eifler-Lima V.L, Von Poser G, Ribeiro V.L.S. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and β -amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 157:149–153, 2008.
- Ferreira P, Soares G.L.G, D'avila S, ECA BESSA. The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (BRUGÜIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE). **Braz Arch Biol Technol** 52(4):945–952, 2009.
- Goskun S, Girisgin O, Kürkcüoğlu M, Malyer H, Girisgin A.O, Kırimer N, Baser K.H. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). **Parasitology Research** 103:259–261, 2008.

Guedes E, Leite R.C, Prata, M.C.A, et al. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz** 100:841-848, 2005.

Guglielmone A.A, Szabó M.P.J, Martins J.R.S, Estrada-Pena A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. p. 115-138. In: Barros-Battesti DMB, Arzua M, Bechara GH (eds) Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies. **Instituto Butantan**, São Paulo, p 223, 2006.

Guimarães J.H, Tucci E.C, Barros-Battesti D.M. Ectoparasitos de Importância Médico Veterinária. São Paulo: **Plêiade/FAPESP**, 213p, 2001.

Imdorf A, Kilchenman V, Bogdanov S. Toxizität von thymol; campher, menthol and eucaliptol auf *Varroa jacobsoni* und *Apis mellifera* L. in labortest. **Apidol** 26:27–31, 1995.

LABRUNA, M.B. Epidemiologia da febre maculosa no Brasil e nas Américas. In: **Simpósio Brasileiro de Acarologia**, Viçosa, p. 63-72, 2006.

Labruna M.B, Sanfilippo L.F, Demetrio C, Menezes A.C, Pinter A, Guglielmone A.A, Silveira L.F. Ticks collected on birds in the state of Sao Paulo, Brazil. **Experimental & Applied Acarology** 43:147-160, 2007.

Leite R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): Susceptibilidade, uso atual e retrospectiva de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem Epidemiológica. **PhD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Brazil, p119, 1988.

Mansour S.A, Messeha S.S, El-Gengaihi S.E. Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. **Journal National Toxins** 9:49–62, 2000.

Martins J.R.S, Furlong J, Leite R.C. Controle de carrapatos. p.145–153. In: Barros-Battesti DMB, Arzua M, Bechara GH (eds) Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies. **Instituto Butantan**, São Paulo, p 223, 2006.

Martins J.R, Medri I.M, Oliveira C.M, Guglielmone A.A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, **Brasil Ciência Rural** 34:293-295, 2004.

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** 105:1093-1097, 2009.

Monteiro C.M.O, Daemon E, Silva A.M.R, Maturano R, Amaral C.D. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research** 106:615-619, 2010.

Neitz W.O, Boughton F, Walters H.S. Laboratory investigations on the life cycle of paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann, 1904). **Onderstepoort Journal of Veterinary Research** 38:215–224, 1971

Novelino A.M.S, Daemon E, Soares G.L.G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research** 101:809–811, 2007a.

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** 59:700-704, 2007b.

Oliveira P.R. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 23:118-122, 2004.

Prata, M. C. A. Carrapato estrela: problemas e soluções para animais e humanos. p. 51-65. in: Furlong, J. **Carrapato: problemas e soluções, Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite**, 65p, 2005.

Ribeiro V.L.S, Toigo E, Bordignon S.A.L, Gonçalves K, Von Poser G. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology** 147:199–203, 2008.

Soares S.F; Borges L.M.F; Sousa Braga, R; Ferreira L.L; Louly, C.C.B; Tresvenzol, L.M.F; de Paula J.R; Ferri P.H. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Veterinary Parasitology**, v.167, p.67-73, 2009.

Sousa L.A.D, Soares S.F, Pires J.R, Ferri P.H, Borges L.M.F. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 17:36-40, 2008.

SOUZA, C. E. et al. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:203-204, 2004.

Stone B.F, Haydock K.P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). **Bull. Entomology Research** 53:563–578, 1962.

REFERÊNCIAS

- APEL M. A, RIBEIRO V.L.S, BORDIGNON S.A.L, HENRIQUE A.T, VON POSER G. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research** DOI 10.1007/s00436-009-1455-4, 2009.
- BALADRIN N.F, KLOCKE J.A, WURTLE E.S, BOLLINGER W.H. Natural 259 plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science** 228:1154–1660, 1985.
- BENNETT G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae): influence of tick size on egg production. **Acarology** 16:52–61, 1974.
- BITTENCOURT V.R.E.P. Avaliação da eficácia in vitro de dois isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 6:42-52, 1997.
- BORGES L.M.F, CARNEIRO J.R, GOMES A.G, MOREIRA P.C. Influência do peso inicial e da estação do ano na conversão em ovos de fêmeas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Ciência Animal**, 2001.
- CHAGAS A.C.S, PASSOS W.M, PRATES H.T, LEITE R.C, FURLONG J, FORTES I.C.P. Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 39:247-253, 2002.
- CHAGAS A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:156–160, 2004.
- CLEMENTE M.A, ARCOVERDE A. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitol Res** 105:495–497 618. **Parasitology Research** 106:615–619, 2009.
- 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** 105: 495–497, 2009.
- DRUMMOND R.O, ERNEST S.E, TREVINO J.L, GLADNEY W.J, GRAHAM O.H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory 294 test of insecticides. **Journal Econ Entomology** 66:130–133, 1973.
- FERNANDES F.F, FREITAS E.P.S.F. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the

southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology** 147:150–154, 2007.

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

FERREIRA, P. S. Influência da Cafeína e do Timol sobre a sobrevivência, o crescimento e a reprodução de três espécies de moluscos sob condições de laboratório. **Dissertação Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia) - Universidade Federal de Juiz de Fora** 105p, 2005.

FERREIRA P, SOARES G.L.G, D'avila S, BESSA E.C.A. The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (BRUGÜIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE). **Braz Arch Biol Technol** 52(4):945–952, 2009.

FURLONG J, MARTINS J.R.S, PRATA M.C.A. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária** 23:53–56, 2004.

FURLONG J, MARTINS J.R.S, PRATA M.C.A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária** 27:53–56, 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** 21:8–10, 2002.

GOSKUN S, GIRISGIN O, KÜRKCÜOĞLU 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** 103:259–261, 2008.

GUEDES E, LEITE R.C, PRATA M.C.A. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz** 100:841-848, 2005.

GUGLELMONE A.A, SZABÓ M.P.J, MARTINS J.R.S, ESTRADA-PENA A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. p. 115-138. In: Barros-Battesti DMB, Arzua M, Bechara GH (eds) Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies. **Instituto Butantan**, São Paulo, p 223, 2006.

GUIMARÃES J.H, TUCCI E.C, BARROS-BATESTI D.M. Ectoparasitos de Importância Médico Veterinária. São Paulo: **Plêiade/FAPESP**, 213p, 2001.

HARRISON, T.R.; BRAUNWALD, E.; FAUCI, A.S.; *et al.* **Medicina Interna**. 15 ed, editora Mc Graw Hill. Rio de Janeiro. p.1524, 2002.

HIGES, M.; LLORENTE, J. Ensayo de la eficacia del timol in el control de la varroosis de *Apis mellifera* em colmenas em produccion. Agricultura Ecologia y Desarrollo Rural **In: II CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE AGRICULTURA ECOLÓGICA**, p.204-210, 1996.

IMDORF A, KILCHENMAN V, BOGDANOV S. Toxizität von thymol; campher, menthol and eucaliptol auf *Varroa jacobsoni* oud ind *Apis mellifera* L. **in labortest. Apidol** 26:27–31, 1995.

JACOBY, C.; COLTRO, E. M.; SLOMA, D. C.; MULLER, J.; DIAS, L. A.; LUFT, M.; BERUSKI, P. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade rural de Guamirim, Município de Irati, PR. **Revista Ciências Exatas Naturais.**, v. 4 n.1, p. 79-89, 2002.

JONSSON N.N, PIPER E.K. Integrated control programs for ticks on cattle, **The University of Queensland, Queensland**, 2007.

LABRUNA, M. B. Epidemiologia da febre maculosa no Brasil e nas Américas. **In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, Viçosa**, p. 63-72, 2006.

LABRUNA M.B, SANFILIPPO L.F, DEMETRIO C, MENEZES A.C, PINTER A, GUGLIELMONE A.A, SILVEIRA L.F. Ticks collected on birds in the state of Sao Paulo, Brazil. **Experimental & Applied Acarology** 43:147-160, 2007.

LABRUNA M.B. Combate contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Pereira MC, Labruna MB, Szabo MPJ, Klafke GM (eds) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência. MEDVET*, São Paulo, pp 57–64, 2008.

LEITE R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): Susceptibilidade, uso atual e retrospectiva de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem Epidemiológica. PhD Thesis, **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Brazil, p119, 1988.

LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P. R.; LOPES, C.M.L.; *et al.* A febre que vem do carrapato. *Amblyomma cajennense*, uma proposta de controle estratégico. **Vetores & Pragas**, Belo Horizonte, v.2, n.1, p.22-25, 1998.

MANSOUR S.A, MESSEHEA S.S, EL-GENGAIHI S.E. Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. **Journal National Toxins** 9:49–62, 2000.

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

MARTINS R.M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) en la garrapata *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.2, p. 71-78, 2006.

MARTINS J.R.S, FURLONG J, LEITE R.C. Controle de carrapatos. In: Barros-Battesti DMB, Arzua M, Bechara GH (eds) Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies. **Instituto Butantan**, São Paulo, pp 145–153, 2006.

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** 105:1093–1097, 2009.

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

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

NOVELINO A.M.S, DAEMON E, SOARES G.L.G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salycilic acid and methyl salycilate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research** 101:809–811, 2007a.

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** 59:700–704, 2007b.

OLIVEIRA P.R. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 23:118-122, 2004.

OLIVO C.J, CARVALHO N.M, SILVA J.H.S, VOGEL F.F, MASSARIOL P, MEINERZ G, AGNOLIN C, MOREL A.F, VIAU L.V. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.406-410, mar-abr, 2008.

PRATA M. C. A. Carrapato estrela: problemas e soluções para animais e humanos. p. 51-65. in: **Furlong, J. Carrapato: problemas e soluções**, Juiz de Fora, Embrapa gado de Leite, 65p, 2005.

PEREIRA M.C, LABRUNA M.B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Pereira MC, Labruna MB, Szabo MPJ, Klafke GM (eds) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Biologia, Controle e Resistência. **MEDVET**, São Paulo, pp 15–56, 2008.

PINNA M.H, SANAVRIA A., MACHADO V.C, MORAIS M.C Incidência e distribuição de *Amblyomma cajennense* em regiões corporais de eqüinos das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier, naturalmente infestados. **Parasitologia Latino am** 59: 21 - 25, 2004.

RIBEIRO V.L.S, TOIGO E, BORDIGNON S.A.L, GONÇALVES K, VON POSER G. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology** 147:199–203, 2007.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Interações (Campo Grande): Revista **Internacional e Desenvolvimento Local**. v.1, p.43-50, 2001.

SANTOS A.P, FURLONG J. Competição intraespecífica em *Boophilus microplus*. **Ciência Rural** 32:1033–1038, 2002.

SOARES S.F, BORGES L.M.F, SOUSA BRAGA R, FERREIRA L.L, LOULY C.C.B, TRESVENZOL L.M.F; de PAULA J.R; FERRI P.H. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Veterinary Parasitology**, v.167, p.67-73, 2009.

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

SOUSA L.A.D, SOARES S.F, FERRI P.H, PIRES J.R, BORGES L.M.F. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 17:36-40, 2008.

SOUZA, C. E. et al. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:203-204

STONE B.F, HAYDOCK K.P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). **Bull Entomol Res** 53:563–578, 1962.

TRABOULSI, A.F.; TAOUBI, K.; EL-HAJ, S. *et al.* Insecticidal properties of essential plants oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Díptera: Culicidae). **Pest Manag. Science**, v.58, p. 491-495, 2002.

VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABURUNA, M. B.; *et al.* **Manual de Vigilância Acarológica**. São Paulo, 62 p., 2004.

WALKER A.R, BOUARTTOUR A, CAMICAS J.L, ESTRADA-PEÑA A, HORAK I, LATIF A, PEGRAM R, PRESTON P. Ticks of Domestic Animals in Africa. **A Guide to identification of Species**. University of Edinburgh, Edinburgh, 2003.