



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA**

JANDER DE SOUZA TAVARES

**BIOTRATAMENTO DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) COM
EXTRATOS OBTIDOS DE FUNGOS BASIDIOMICETOS DO BAIXO AMAZONAS**

**PARINTINS
2015**

JANDER DE SOUZA TAVARES

**BIOTRATAMENTO DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) COM
EXTRATOS OBTIDOS DE FUNGOS BASIDIOMICETOS DO BAIXO AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Castro e Silva
Co-Orientador: Prof. Dr. Fabiano Gazzi Taddei

PARINTINS
2015

JANDER DE SOUZA TAVARES

**BIOTRATAMENTO DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) COM
EXTRATOS OBTIDOS DE FUNGOS BASIDIOMICETOS DO BAIXO AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Data da aprovação ___/___/___

Banca Examinadora:

Dr. Ademir Castro e Silva
Universidade do Estado do Amazonas - UEA

Dr. Rodolfo Sanches
Universidad Del Pilar - Cuba

Dr. Wilson Castro Silva
Universidade do Estado Amazonas - UEA

**PARINTINS
2015**

Ficha Catalográfica elaborada na Biblioteca CESP-UEA

T231b Tavares, Jander de Souza

Biotratamento de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) com extratos obtidos de fungos basidiomicetos do Baixo Amazonas. / Jander de Souza Tavares. – Manaus: UEA, 2015.

43f. : il color; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Castro e Silva

Co-Orientador: Prof. Dr. Fabiano Gazzi Taddei

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia) – Universidade do Amazonas, 2015.

1. Fungos – Amazônia 2. Extratos fungicos 3. Fungos basidiomicetos
I. Silva, Adermir Castro e II Taddei, Fabiano Gazzi III Título.

CDU – 582.28 (043)

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, a minha família que em todos os momentos estiveram do meu lado me dando apoio e incentivo, em especial a minha esposa Helen, a minha mãe Ana Izabel e meu irmão Anderson.

Os que desprezam os pequenos acontecimentos, nunca farão grandes descobertas. Pequenos momentos mudam grandes rotas”.

Augusto Cury.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida e, não somente nestes anos como universitário, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

Obrigado a minha esposa Helen Sarraff, que nos momentos de minha ausência dedicado ao estudo, sempre me entendeu, percebendo que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Agradeço a minha mãe Ana Izabel Gonçalves de Souza, meu exemplo de perseverança e superação, que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço.

Obrigado ao meu irmão Anderson Tavares, que em horas de dúvidas sempre estava disposto a me ouvir e discutir ideias sobre minha pesquisa, mesmo não sendo sua área de formação.

Aos meus primos e familiares que sempre estavam presentes e me incentivaram.

Ao meu Orientador Professor Ademir Castro e Silva, pela confiança depositada no meu trabalho.

À meu co-orientador professor Fabiano Gazzi Taddei, pela amizade e disponibilidade. Presença essencial no desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao Centro Veterinário, na pessoa de seu proprietário veterinário Gustavo Passineli, pela preciosa ajuda.

Aos meus amigos de mestrado Cristiano Abreu, Elerson Rocha, Ricardo Katak, pelo companheirismo, disponibilidade e prontidão nas horas de necessárias.

À todos os colegas da turma de mestrado em biotecnologia e recursos naturais 2013, aos professores do curso.

Ao professor Cleiton Fantin, pela força que deu em minha trajetória, na ajuda com as viagens a Manaus e recursos ao laboratório

À amiga de laboratório a Adriana Nunes e aos bolsistas do Iniciação científica que nos auxiliaram nos momentos de ausência no laboratório.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da UEA.

Ao Centro de Estudos Superiores de Partintins – CESP – UEA, onde desenvolvi minha pesquisa.

RESUMO

O gênero *Rhipicephalus* ocorre em toda a Região Neotropical, predominando nas áreas urbanas acomete, aproximadamente, 30% dos cães, sendo a espécie de carrapato de maior distribuição geográfica no mundo e, está presente em todos os continentes habitados por humanos e cães domésticos. No Brasil o carrapato é encontrado em todos os estados e, seu controle e de outros carrapatos de importância econômica à saúde pública, é baseado no uso de acaricidas químicos, fato que associado ao uso excessivo e sem critérios, tem ocasionado desenvolvimento de cepas resistentes. Diante destes fatos, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial acaricida de extratos obtidos de carpóforo da cepa amazônica de *Pycnopus sanguineus* buscando formas alternativas e econômicas para o controle da espécie. Os extratos foram obtidos a partir de solventes extratores, aquoso e alcoólico, em processo a frio. Foram utilizadas soluções dos extratos aquoso e alcoólico, em concentrações de 1, 5, 10 e 20 mg/ml⁻¹, em teste de imersão sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e então avaliados os índices de oviposição e a eficiência reprodutiva. Os resultados evidenciaram uma redução significativa do índice de oviposição, em torno de 72% e, controle de reprodução variando de 84% a 100% na concentração de maior eficiência, 20mg/ml⁻¹ do extrato alcoólico. Conclui-se que os compostos bioativos do carpóforo de *P. sanguineus* podem ser uma alternativa promissora no controle do carrapato canino.

Palavras-chave: *Pycnopus sanguineus*, Fungos Basidiomicetos Amazônicos, Extratos fungicos, carrapato canino

ABSTRACT

The *Rhipicephalus* genus occurs throughout the Neotropical Region, predominantly in urban areas affects approximately 30% of dogs, and the species of most widely distributed tick in the world and is present on every continent inhabited by humans and domestic dogs. In Brazil, the tick is found in all states and, its control and of others of economic importance to public health, is based solely on the use of chemical acaricides, fact that associated with overuse and without criteria, led to development of resistant strains. Given these facts, the objective of this study is to evaluate the potential of acaricide extract obtained from the *Carpophorus* Amazon strain of *Pycnoporus sanguineus* seeking alternatives and cost-effective ways to control the species. The extracts were obtained from extractors, aqueous and alcoholic in the cold process. Was used solutions of extract aqueous and alcoholic at concentrations of 1, 5, 10 and 20 mg. mL. in immersion test on engorged female ticks of *Rhipicephalus sanguineus* and then was evaluated the oviposition rates and reproductive efficiency. Results showed a significant decrease in oviposition rate around 72%, and playback control ranging from 84% to 100% at a concentration of greater efficiency, 20mg / ml of alcoholic extract. It is concluded that the bioactive compounds *P. sanguineus* may be a promising alternative in the control of canine tick.

Keywords: *Pycnoporus sanguineus*, Amazon fungi basidiomycetes, antifungal extracts, canine tick.

1 LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Percentual de eclosão e eficiência reprodutiva dos extratos de <i>P. sanguineus</i>	23
--	----

2 LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1 – Carrapatos em ambiente antrópico: vista de janela	3
Figura 2 – estágios de desenvolvimento do <i>Rhipicephalus sanguineus</i> : a) Larva; b) Ninfa; c) Fêmea adulta; d) Macho adulto	4
Figura 3 – Ciclo de vida do <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	4

CAPÍTULO I

Figura 1 - Percentual de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> para as concentrações de extrato aquoso de <i>P. sanguineus</i>	21
Figura 2 - Percentual de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> para as concentrações de extrato alcoólico de <i>P. sanguineus</i>	22
Figura 3 - Percentual de Controle de Reprodução (CR) do extrato de <i>P. sanguineus</i> . (A) Extrato etanólico. (B) Extrato aquoso	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
2.1 <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	2
2.2 Ciclo de vida do carrapato	4
2.3 Controle químico e sintético.....	5
2.4 Potencial biotecnológico dos fungos basidiomicetos amazônicos	6
2.4.1 Fungos basidiomicetos Amazônicos	6
2.4.2 <i>Pycnoporus sanguineus</i>	7
3 OBJETIVO GERAL.....	8
3.1 Objetivos específicos	8
REFERÊNCIAS	9
CAPÍTULO I.....	15

1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos de importância econômica e para a saúde pública são artrópodes da Classe *Arachnida*, Ordem *Acari* e Famílias: *Ixodidae* e *Argasidae*. Todas as espécies requerem, obrigatoriamente, sangue de vertebrados e possuem significativo grau de especificidade podendo utilizar hospedeiros alternativos, inclusive o homem (MASSARD e FONSECA, 2004). Podem estar no solo, como por exemplo, locais com vegetação, principalmente, gramados e nas frestas de paredes sempre à espera de um hospedeiro. Quando um hospedeiro se aproxima, o carrapato fixa-se a ele, deslocando-se pelo seu corpo até encontrar um local apropriado para a alimentação, como o pescoço ou a cabeça (NESVES, 2011)

O carrapato fixa seu hipóstomo na pele do hospedeiro e secreta uma substância leitosa chamada cimento, que ao enrijecer, auxilia na fixação. As glândulas ainda secretam agentes farmacológicos com funções anticoagulantes e citolíticas, entre outras, que provocam, no hospedeiro, o aumento da permeabilidade vascular, dilatação dos vasos sanguíneos, hemorragia e intenso prurido (NEVES, 2011), causando a formação de edemas, vesículas e, com a área lesada, favorece a transmissão de doenças de cães, por exemplo as que são vetores: babesiose, hemobartolose e hepatozoonose (ALMEIDA *et al.*, 2012) e de humanos como a febre maculosa (MARTINS *et al.*, 2009).

Os carrapatos precisam de condições específicas para o seu correto desenvolvimento, principalmente, de temperatura e umidade. Soares *et al.* (2012) relata uma relação dos níveis de desenvolvimento e das fases com a temperatura e umidade, principalmente, na eclosão, já que os ovos são muito susceptíveis a baixa umidade e a sobrevivência do carrapato sem se alimentar é inversamente proporcional à temperatura. Estudos relatam que o período de maior atividade em vida livre das fêmeas adultas ingurgitadas ocorre na ausência de luz, e que, das primeiras fases de larva e ninfa, ocorre em qualquer período do dia (PAZ *et al.*, 2008b).

Para o controle de carrapatos diversos métodos têm sido pesquisados, no Brasil o controle de carrapatos é baseado tão somente no uso de acaricidas o que, por outro lado, em função do uso excessivo e sem critérios dos mesmos, tem ocasionado o desenvolvimento de cepas resistentes (SOARES *et al.*, 2012).

Segundo Spinosa *et al.* (2006), a capacidade do carrapato inativar substâncias químicas é produto da seleção de indivíduos com fatores genéticos que permitem a

resistência, estes seriam selecionados pela pressão causada pela utilização em excesso dos antiparasitários.

A busca por formas alternativas de controle de ectoparasitas como o *Rhipicephalus sanguineus* é crescente. Vários estudos têm mostrado a eficiência de extratos vegetais para o controle do gênero *Rhipicephalus* (FERNANDES *et al.*, 2010; PINTO *et al.*, 2011; MACHADO *et al.*, 2013; FARIAS *et al.*, 2009; BROGLIO-MICHELETTI *et al.*, 2009). Outra forma ocorre nos bioativos de fungos (PRETTE *et al.*, 2005; GARCIA *et al.*, 2008).

Portanto, diante da necessidade de se buscar alternativas de controle a carrapatos e o potencial fúngico amazônico inexplorado nesse sentido, o presente trabalho visa avaliar o potencial de extratos obtido de carpóforo da cepa amazônica de *Pycnopus sanguineus* frente a postura dos ovos de *Rhipicephalus sanguineus*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Rhipicephalus sanguineus*

O gênero *Rhipicephalus*, de origem afrotropical, compreende 82 espécies reconhecidas e foi introduzido nas Américas, provavelmente, com a colonização, atualmente, ocorre em toda a Região Neotropical predominando nas áreas urbanas e acometem, aproximadamente, 30% dos cães (GUGLIELMONE *et al.*, 2010).

Rhipicephalus sanguineus, provavelmente, seja a espécie de carrapato de mais ampla distribuição no mundo, estando presente em todos os continentes habitados por humanos e cães domésticos (WALKER *et al.*, 2000). Fundamentalmente, parasita cães, sendo denominado carrapato castanho do cão ou do canil (URQUHART *et al.*, 1998), também é conhecido como carrapato-duro (BRUSCA E BRUSCA, 2007), ou carrapato castanho do cão (BOWMAN *et al.*, 2006). Com frequência, torna-se numa importante praga urbana que começa a requerer atenção das instituições de saúde pública, sendo ainda, motivo de constante preocupação entre os profissionais veterinários em seus locais de atendimento (PAZ *et al.*, 2008a)

No ambiente o carrapato procura locais protegidos, com sombra e pouca ventilação, pode ser parte da biomassa (árvores, arbustos, vegetação rasteira), do ecótopo (buracos no solo, fendas em rochas, torrões de solo arado), ou em ambiente antrópico (paredes de casas

humanas, muros de limitação entre domínios urbanos, falhas no assentamento de piso interior ou exterior de habitações), e em estruturas dentro da habitação de humanos (móveis, sancas, cortinas, quadros de parede) (SERRA-FREIRE *et al.*, 2011) (Figura 1)



Figura 1: Carrapatos em ambiente antrópico: vista de janela.

Fonte: o autor

R. sanguineus são ectoparasitas de vertebrados e apresentam o maior tamanho corpóreo de toda ordem (Brusca e Brusca, 2007) sendo vetor de diversos patógenos de importância para os cães, incluindo dos agentes da babesiose (*Babesia canis*), da hemobartolose, da hepatozoonose (*Rickssia rickettsii*) e da erliquiose (*Ehrlichia canis*) (RUPPERT *et al.*, 2007; NEVES, 2011; BOWMAN *et al.*, 2006; LOULY *et al.*, 2006; MASSARD e FONSECA, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2012) doenças que podem ser fatais aos cães. Também são vetores de doenças que ocorrem em humanos, tais como: doença de Lyme nos EUA e febre maculosa no Brasil. Ressalta-se que esse assunto é pouco aprofundado e difundido, considerando sua grande importância para a epidemiologia de carrapatos e doenças transmitidas por estes (MARTINS *et al.*, 2009).

A espécie é identificada pela presença de olhos com festões, palpos e hipostômio curtos, apresentando a base do capítulo hexagonal ventralmente; possui, como todos os representantes da família *Ixodidae*, uma carapaça que se estende, no macho, por todo o dorso e, na fêmea, apenas na porção superior (URQUHART *et al.*, 1998). Sua fase de larva é, facilmente, identificável devido ter apenas três pares de patas, na fase de ninfa e adulto observa-se quatro pares. (Figura 2)

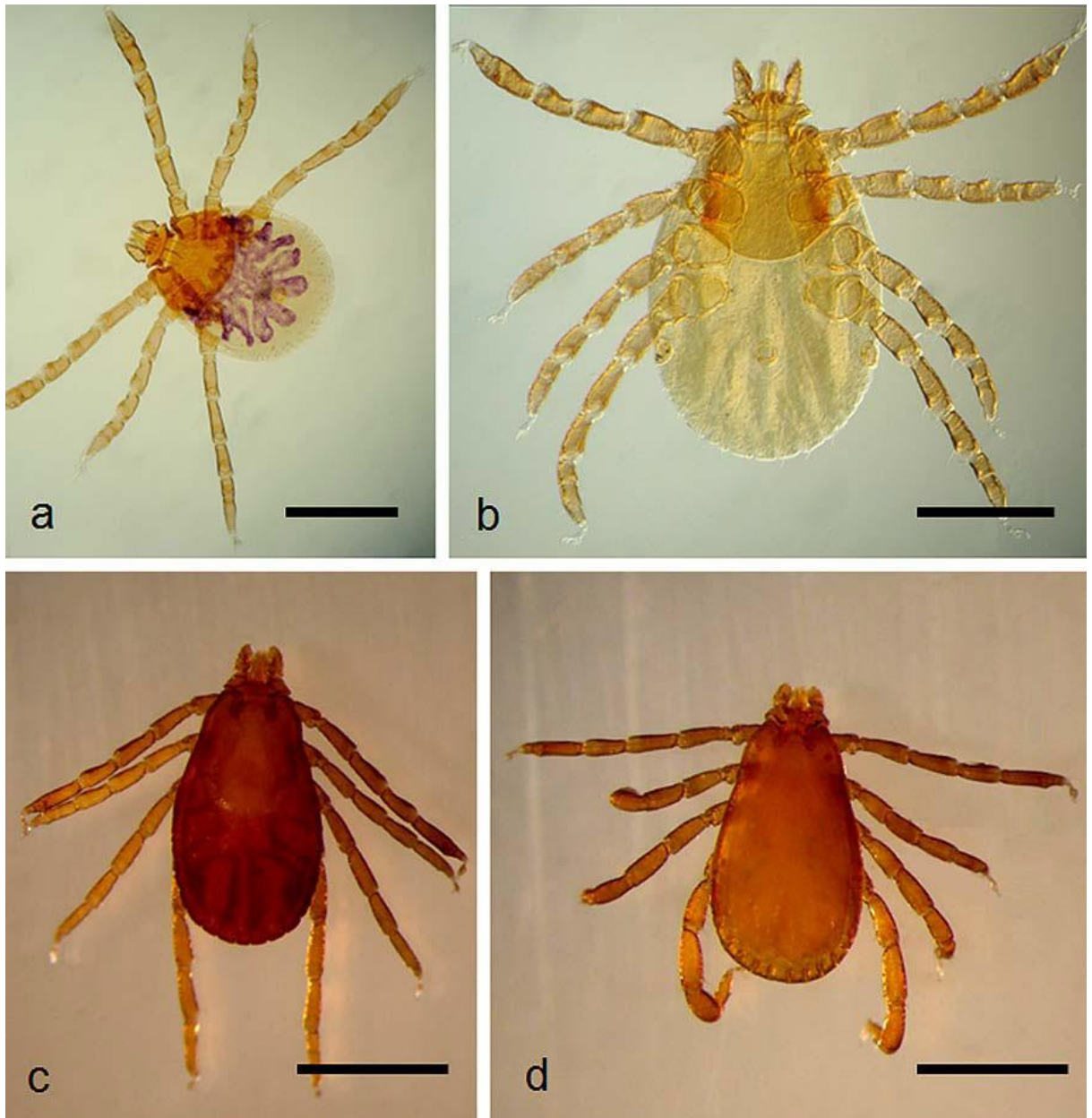


Figura 2: estágios de desenvolvimento do *Rhipicephalus sanguineus*: a) Larva; b) Ninfa; c) fêmea adulta; d) macho adulto

Fonte: Dantas – Torres (2010)

2.2 Ciclo de vida do carrapato

R. sanguineus apresenta três formas parasitárias dentro de seu ciclo de vida: larva, ninfa e adulto, o último é o único estágio com dimorfismo sexual, cada estágio parasita o hospedeiro por alguns dias (3 a 7 dias para larvas e ninfas, 5 a 10 dias para fêmeas adultas e mais de 15 dias para machos adultos) (LABRUNA, 2004), sendo considerado um carrapato de 3 hospedeiros (NEVES, 2011), em cada estágio ativo de desenvolvimento (larva, ninfa e

adulto) se alimenta apenas uma vez e a muda (ou ecdise) ocorre no ambiente (DANTASTORRES, 2008c).

A Figura 3 demonstra, esquematicamente, como ocorre o ciclo de vida desse carrapato. Após se ingurgitarem, larvas e ninfas se desprendem dos hospedeiros e trocam o exoesqueleto (ecdise) no ambiente. As fêmeas de *R. sanguineus*, após ingurgitarem e serem fertilizadas no hospedeiro, destacam-se e procuram abrigo para proteção e oviposição, esse período de postura dos ovos é variável, entre 10 a 20 dias em ambientes propícios e, de 30 a 50 em condições adversas. O desenvolvimento dos ovos depende muito das condições de temperatura, nas menores o tempo de cada estadio de desenvolvimento aumenta, principalmente, incubações e pré-postura. Durante seu desenvolvimento ontogenético o carrapato possui os estadios de larva hexápoda, ninfa octópoda e adulto (NEVES,2011; BOWMAN *et al.* ,2006)

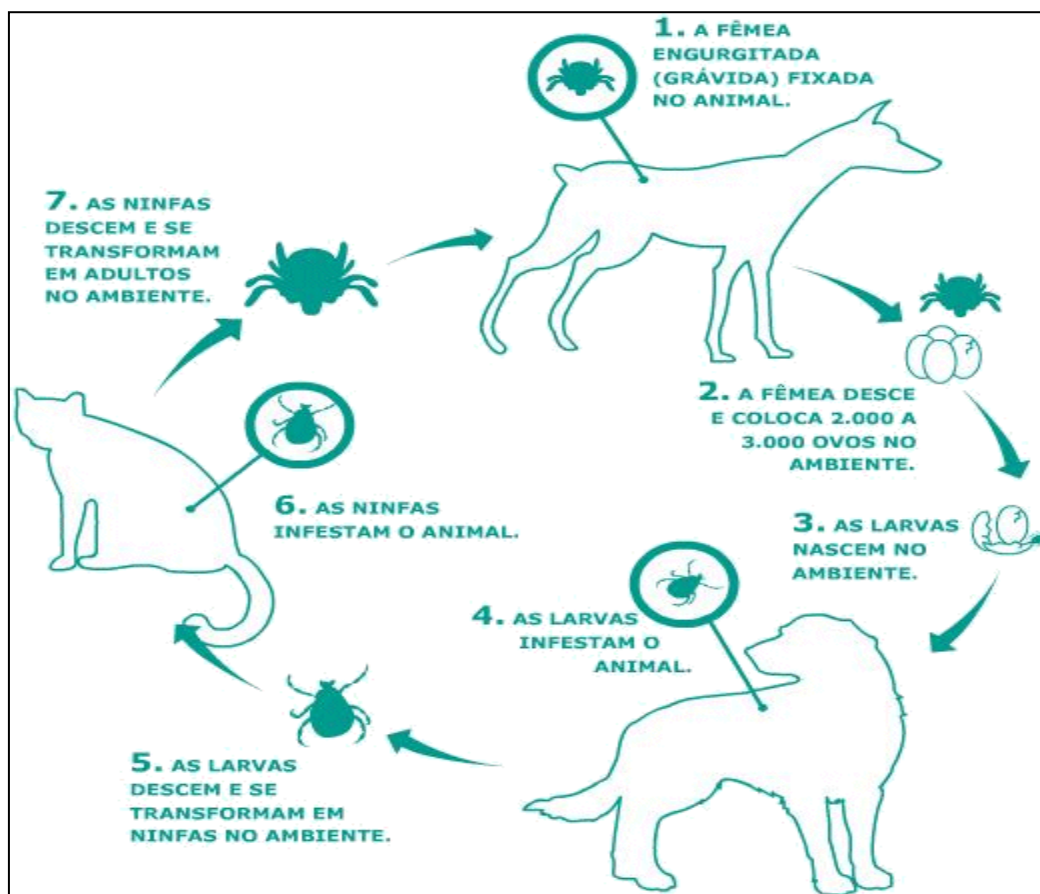


Figura 3. Ciclo de vida do *Rhipicephalus sanguineus*
 Fonte: portallpug.blogspot.com

2.3 Controle químico sintético e resistência

A resistência aos acaricidas sintéticos é um dos principais problemas mundiais em relação ao controle de carrapatos (BORGES *et al.*, 2007).

Devido a ampla disseminação do *R. sanguineus* pelo mundo, sua capacidade em desenvolver infestações intensas em pouco tempo no cão e, a possibilidade de veiculação de agentes infecciosos para o homem, a demanda por seu controle, particularmente, no meio urbano é crescente (SZABÓ *et al.*, 2009).

Dentre os grupamentos químicos mais empregados, atualmente, no controle de ectoparasitos em pequenos animais, encontram-se: carbamatos, organofosforados, piretróides, formidinas, lactonas macrocíclicas e os fenilpirazóis, cada um desse com modos de ação e eficácia distintos (SPINOSA *et al.*, 2006). A semelhança do que ocorre com outros carrapatos de importância econômica, a resistência do *R. sanguineus* aos principais princípios ativos é observada (GUGLIELMONE *et al.*, 2004, apud, SZABÓ *et al.*, 2009)

Não há estudos sobre a resistência deste carrapato relacionando cepas normais e sensíveis, na literatura são encontrados poucos relatos para outros países (BORGES *et al.*, 2007). Borges *et al.* (2007) testaram doses recomendadas pelo fabricante de um certo acaricida, verificando que larvas de *R. sanguineus* não apresentaram mortalidade de 100%, fato que sugeriu resistência ao produto.

2.4 Potencial biotecnológico dos Fungos Basidiomicetos Amazônicos.

2.4.1 Fungos Basidiomicetos Amazônicos.

Apesar da Amazônia possuir uma das maiores diversidades biológicas do planeta e, figurar entre uma das mais estudadas, devido sua extensão e complexidade, ainda é considerada uma inovação em termos de pesquisa e utilização de seus recursos naturais. Neste contexto encontra-se a biodiversidade fúngica.

Os fungos são seres muito versáteis e aptos a viverem sob diferentes condições ambientais, podendo-se encontrar fungos em, praticamente, todos os ambientes, forma e substrato. São organismos heterotróficos, que há tempos foram considerados plantas primitivas. Observa-se a versatilidade e sucesso evolutivo pelo número total de espécies, estimada em cerca de 1,5 milhões, número que faz do grupo, o segundo maior, suplantado apenas pelos insetos (RAVEN *et al.*, 2007).

No âmbito dos recursos florestais, a Região Amazônica por suas condições edafoclimáticas e ampla heterogeneidade florística, é um ambiente que favorece o crescimento dos fungos, especialmente, em substratos lignocelulolíticos. Constata-se grande biodiversidade de macrofungos, mas a importância da biodiversidade fúngica no sistema florestal, suas potencialidades bioeconômicas são pouco exploradas (JESUS *et al.*, 20013).

O filo dos Basidiomicetos possui cerca de 22.300 espécies, no qual estão incluídos os fungos comestíveis, venenosos e os conhecidos como orelhas-de-pau (RAVEN, EVERT E EICHHORN, 2007). Esse filo vem sendo estudado pelo fato das propriedades terapêuticas serem reconhecidas por milênios pelos povos orientais, os primeiros livros chineses sobre produtos naturais medicinais datam de 200 anos atrás (KAJIANG; ROBERTS, 1986; *apud* VANDERLINDE e ONOFRE, 2010).

Esses fungos são muito conhecidos pela sua forma de adquirir alimento, decompondo matéria vegetal em decomposição, degradando materiais lignocelulósicos na natureza, principalmente, lignina (podridão branca), celulose e hemicelulose (podridão parda e mole). Biotecnologicamente, o interesse por essa classe é o complexo enzimático que produz enzimas ligninolíticas (lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase) que degradam vários compostos de alto peso molecular (ESPOSITO e AZEDO, 2004). Vários aspectos da aplicação biotecnológica têm sido explorados nos últimos anos, tais como: caráter ambiental no tratamento de resíduos líquidos, bioremediação de solos poluídos, mineralogia e biohidrometalurgia, produção de biomassa e tecnologia de combustíveis, particularmente, na solubilização do carvão e emprego em controle biológico (CASTRO E SILVA e AGUIAR, 2001).

2.4.2 *Pycnoporus sanguineus*

Pycnoporus sanguineus é um fungo que pertence à divisão Basidiomycota, classe Basidiomycetes, ordem Aphyllophorales e família Polyporaceae. É um fungo que se encontra em grandes quantidades no verão, destacando-se que a temperatura ideal de crescimento na região está em torno de 30-35°C (Castro e Silva e Aguiar, 2001).

Vários trabalhos estão sendo realizados visando a caracterização do potencial enzimático do *Pycnoporus sanguineus* como, por exemplo, sua utilização na clarificação de efluentes da indústria papelreira, na descolorização de tinturas provenientes da indústria têxtil, que é um poluente frequente nos rios das regiões e que ainda são nocivos a saúde humana (MACHADO, 2006).

Outros trabalhos relatam à produção de enzimas em quantidades favoráveis a produção industrial em meios diversificados, demonstrando uma ótima versatilidade do fungo a diferente tipo de substrato em relação a alimentação e produção de enzimas de valor comercial (BORDERES *et al.*, 2011; VALERIANO *et al.*, 2007; DARTÁN-GANZÁLEZ *et al.*, 2008).

A espécie *Pycnoporus sanguineus* possui uma substância de efeito antimicrobiano comprovado, a cinabarina, além de conter propriedades eliciadoras que induzem a resistência da planta (SMÂNIA *et al.*, 1995; SMÂNIA JR *et al.*, 2003; VANDERLINDE e ONOFRE, 2010). Além disso, atualmente, é crescente o número de pesquisas que relatam tratamentos com extratos de fungos sob doenças que acometem plantas, tais como: mancha angular do feijoeiro, crestamento comum (TOILLER *et al.*, 2010; VIECELLI *et al.*, 2009; BALDO *et al.*, 2011), presença de fungos fitopatógenos do gênero *Fusarium*, causadores de várias doenças, principalmente, em culturas de importância comercial (FIGUEIREDO e CASTRO E SILVA, 2014)

Recentemente Bücken *et al.* (2013) demonstraram a eficácia do extrato de carpóforos de *Pycnoporus sanguineus* no combate a larva dos gêneros *Aedes* e *Anopheles*, reforçando o grande potencial biotecnológico que os fungos amazônicos possuem, em especial a espécie em questão.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial fungitóxico de extratos obtidos de carpóforo da cepa amazônica de *Pycnoporus sanguineus* sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806).

3.1 Objetivos específicos

- ✓ Testar a eficiência dos extratos aquoso e etanólico sobre o índice de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.
- ✓ Verificar a toxicidade dos extratos aquoso e etanólico em relação a eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. R. C; MATIAS, J; GARCIA, M. V; CUNHA, R. C; ANDREOTTI, R. **Importância dos carrapatos na transmissão da Febre Maculosa Brasileira**. Brasília,

DF : Embrapa, 2012. 32 p. ; 21 cm. – (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X; 193).

BALDO, M; STANGARLIN, J. R; FRANZENER, G; ASSI, L; KUHN, O. J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Detecção in situde espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 174-179, 2011.

BORDERES, J; COSTA, A; GUEDES, A; TAVARES, L. B. B. Antioxidant Activity of the Extracts from *Pycnoporus sanguineus* Mycelium. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Vol.54, n. 6: pp.1167-1174, November-December 2011. ISSN 1516-8913 Printed in Brazil.

BORGES, L. M. F; SOARES, S. F; FONCECA, I. N; CHAVES, V. V; LOULY, C. C. B. Resistência acaricida em larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de GoiâniaGO, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Vol. 36 (1): 87-95. jan.-abr. 2007.

BOWMAN, D. D; LYNN, R. C; EBERHARD, M. L; ALCATROZ, A. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. 8 ed. Barueri: Manoli, 2006.

BROGLIO-MICHELETT, S. M. F; VALENTE, E. C. N; SOUZA, L. A; DIAS, N. S; ARAÚJO, A. M. N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 44-48, out.-dez. 2009. ISSN 1984-2961 (eletrônico). doi:10.4322/rbpv.01804008.

BRUSCA, R. C; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

BÜCKER, A; BÜCKER, N. C. F; SOUZA, A. Q. L; GAMA, A. M; RODRIGUES-FILHO, E; COSTA, F. M; NUNEZ, C. V; CASTRO E SILVA, A; TADEI, W. P. Larvicidal effects of endophytic and basidiomycete fungus extracts on *Aedes* and *Anopheles* larvae (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 46(4):411-419, Jul-Aug, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0063-2013>.

CASTRO E SILVA, A; AGUIAR, I. J. A. macromorfologia da degradação de madeira da espécie amazônica *Hura crepitans* L. por fungos lignolíticos pertencentes a classe dos Hymenimycetes. **Acta Amazônica** 31(3): 397-418. 2001

DANTAS-TORRES. F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors** 2010, 3:26

DANTÁN-GONZÁLEZ, E; VITE-VALLEJO, O; MARTÍNEZ-ANAYA, C; MÉNDEZ-SÁNCHEZ, M; GONZÁLEZ, M. C; PALOMARES, L. A; FOLCH-MALLOL, J. Production of two novel laccase isoforms by a thermotolerant strain of *Pycnoporus sanguineus* isolated from an oil-polluted tropical habitat. **International Microbiology** (2008) 11:163-169. DOI: 10.2436/20.1501.01.56 ISSN: 1139-6709.

ESPOSITO, E; AZEVEDO, J. L. **Fungos**: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Educs, 2004.

FARIAS, M. P. O; SOUZA, D. P; ARRUDA, A. C; WANDERLEY, A. G; TEIXEIRA, W. C; ALVES, L. C; FAUSTINO, M. A. G. Potencial acaricida do óleo de andiroba *Carapa guianensis* Aubl. sobre fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.4, p.877-882, 2009.

FERNANDES, J. I; CORREIA, T. R; RIBEIRO, F. A; CID, Y. P; TAVARES, P. V; SCOTT, F. B. Eficácia in Vitro do Nim (*Azadirachta indica*) no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE). **Rev. Bras. Med. Vet.**, 32(Supl. 1):64-68, 2010.

FIGUEIREDO, A; CASTRO E SILVA, A. Atividade “in vitro” de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazonica**, VOL. 44(1) 2014: 1 – 8.

GARCIA, M. V; MONTEIRO, A. C; SZABÓ, M. P. J; PRETTE, N. Eventos externos e internos da infecção de larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* por *Metarhizium anisopliae*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.4, p.855-863, 2008.

GUGLIELMONE, A. A; ROBBINS, R. G; APANASKEVICH, D. A; PETNEY, T.N; ESTRADA-PEÑA, A; HORAK, I. G; SHAO, R; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, 2528: 1–28, 2010.

JESUS, M. A; BASTOS, V. I. S; COSTA, J. S. Biodiversidade de macrofungos da região amazônica: potencial alimentar. Manus. Anais do VII simpósio internacional sobre cogumelos no Brasil e VI simpósio Nacional sobre cogumelos comestíveis. p. 124-128, 2013.

LABRUNA, M. B. Biológica-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (acari: ixodidae). Rev. **Bras. Parasitol.Vet.**, v.13, suplemento 1, 2004.

LOULY, C. C. B; FONCECA, I. N; OLIVEIRA, V, F; BORGES, L. M. F. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 7, n. 1, p. 103-106, jan./mar. 2006.

MACHADO, A. F; CASTRO E SILVA, A; RIBEIRO, H. C. T; PROCÓPIO, A. R. L; PINHEIRO, C. C. S; MARTINS, J. R. S; SILVA, W. C. Atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino. **Acta Amazônica**. VOL. 43(2) 2013: 135 – 142.

MACHADO, K. M. G; COMPART, L. C. A; MORAIS, R. O; ROSA, L. H; SANTOS, M. H. Biodegradation of Reactive Textile dyes by Basidiomycetous Fungi from Brazilian Ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology** (2006) 37:481-487. ISSN 1517-8283.

MARTINS, T. F; SPOLIDORIO, M. G; BATISTA, T. C. A; OLIVEIRA, M I. A. S; YOSHINARI, N. H; LABRUNA, M. B. Ocorrência de carrapatos (Acari: Ixodidae) no município de Goiatins, Tocantins. **Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal**, v. 18, n. 2, p. 50-52, abr.-jun. 2009. ISSN 1984-2961 (eletrônico). doi:10.4322/rbpv.01802011.

MASSARD, C. L; FONCECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns a homens e animais. **A hora veterinária** 135(1): 15-23, 2004.

NEVES, David P. **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

PAZ, G. F; LABRUNA, M. B; LEITE, R. C. Ritmo de queda de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de cães artificialmente infestados. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 17, 3, 139-144 (2008)b

PAZ, G. F; LEITE, R. C; OLIVEIRA, P.R. Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1986) (Acari: Ixodidae) no canil de veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 17, 1, 41-44 (2008)a

PINTO, Z. T; QUEIROZ, M. M. C; BARBOSA, J. V. Efficiency of the latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopilii*, in the control of *Rhipicephalus*(*Boophilus*) *sanguineus*(Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** 21(3): May./Jun. 2011.

PRETTE, N; MONTEIRO, A. C; GARCIA, M. V; SOARES, V. E. Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* para ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.855-861, jul-ago, 2005. ISSN 0103-8478

RAVEN, P. H; EVERT, R. F; ECHHORH, S. E. **Biologia Vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RUPPERT, E. E; FOX, R. S; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados: uma abordagem tradicional – evolutiva**. 7 ed. São Paulo: Roca, 2007

SAMÂNIA JR, A; MARQUES, C. J. S; SMÂNIA, E. F. A; ZANETTI, C. R; CAROBREZ, S. G; TRAMONTE, R; LOGUERCIO-LEITE, C. Toxicity and antiviral activity of Cinnabarin obtained from *Pycnopus sanguineus* (Fr.) Murr. **Phytotherapy Research**. 17, 1069-1072. 2003. DOI 10.1002/ptr. 1304.

SERRA-FREIRE, N. M; SENA, L. M. M; BORSOI, A. B. Parasitismo humano por carrapatos na Mata Atlântica, Rio de Janeiro, Brasil. **EntomoBrasilis** 4 (2): 67-72 (2011)

SMÂNIA, A; MONACHE, F. D; SMANIA, E. F; GIL, M.L; BENCHETRIT, L. C; CRUZ, F. S. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnopus sanguineus*. **Journal of Ethnopharmacology** 45:177-181. 1995.

SOARES, D. B; MARTINS, M. M; GERARDI, M; RAMO, V. N. Distribuição sazonal do *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Vet. Not.**, Uberlândia, v.18. n. 2 (supl.), p. 27-30, jul-dez. 2012

SPINOSA, H. S; GÓRHIK, S. L; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SZABÓ, M. P. J; GARCIA, C. A; SILVA, T. L; OLEGÁRIO, M. M; CAMPOS, V. A; CASTRO, I. P. Efeito Acaricida da Mistura Oxigênio - Ozônio Sobre o Carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. **Vet.Not**, Uberlândia, v.15. n.2, jul./dez. 2009.

TOILLIER, S. L; IURKIV, L; MEINERZ, C. C; BALDO, M; VIECELLI, C. A; KUHN, O. J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F; STANGARLIN, J. R. Controle de Crestamento Bacteriano Comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. Phaseoli) e Alterações Bioquímicas em Feijoeiro Induzidas por *Pycnopus Sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.99-110, jan./mar., 2010.

URQUHART, G. M; ARMOUR, J; DUNCAN, J. L; DUNN, A. M; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VALERIANO, V. S.; SILVA, A. M. F. ; SANTIAGO, M. F.; GARCIA, T. A. Estudo de indutores para a produção de lacase por *Pycnopus sanguineus*. Revista eletrônica de Farmácia Goiânia, Vol. IV (2), 140-143, 2007 Suplemento.

VANDERLINDER, D. G; ONOFRE, S. B. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE METABÓLITOS PRODUZIDOS PELO FUNGO *Pycnopus sanguineus* (Linnaeus: Fries) MURRILL. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 1, p. 11-16, jan./abr. 2010 - ISSN 1983-1870

VIECELLI, C. A; STANGARLIN, J. R; KUHN, O. J; .Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnopus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology** 34 (2) March - April 2009.

WALKER, J.B.; KEIRANS, J.E.; HORAK, I.G. The Genus *Rhipicephalus*(Acari, Ixodidae). A guide to the brown ticks of the world. **Cambridge University Press**, Cambridge, 2000, 643p.

CAPÍTULO I

Biotratamento de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) com extratos aquoso e alcoólico do carpóforo do fungo amazônico *Pycnoporus sanguineus*.

Biotratamento de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) com extratos aquoso e alcoólico do carpóforo do fungo amazônico *Pycnoporus sanguineus*.

Tavares, J. S.; Castro e Silva, A.; Taddei, F. G.

Mestrato em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia - UEA, Centro de Estudos superiores de Parintins - UEA, Centro de Estudos Superiores de Iacoatiara – UEA.

Resumo

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é uma praga urbana abundante, principalmente, no clima tropical, por ser vetores de doenças a animais domésticos e ao homem, faz-se necessário a obtenção de formas alternativas menos nocivas de controle a esse carrapato. Com esse objetivo, utilizou-se extratos aquosos e etanólicos do fungo basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus*, nas concentrações 1, 5, 10 e 20 mg/ml⁻¹, em espécimes coletados na região do município de Parintins – AM. Foram utilizadas fêmeas ingurgitadas, submetidas a teste de imersão nas concentrações supracitadas e então, analisados os resultados de inibição do índice de oviposição e eficiência reprodutiva. Para o extrato aquoso foi observado que o percentual de inibição da oviposição variou de 24,47% (concentração 20mg/mL⁻¹) até 68,65% (concentração 5 mg¹mL⁻¹). As análises estatísticas, entretanto, evidenciaram não haver diferença entre as concentrações (p>0,05). O extrato alcoólico apresentou maior percentual de inibição de oviposição em comparação ao extrato aquoso, a inibição total (100%) ocorreu na maior concentração estudada (20mg/mL⁻¹). Em relação a eclosão dos ovos, para as diferentes concentrações testadas com o extrato aquoso, não foram observadas diferenças estatísticas (ANOVA - Tukey). No entanto, todas as concentrações foram eficientes na antecipação da eclosão dos ovos quando comparadas ao controle. Em relação a Eficiência Reprodutiva (ER) o extrato aquoso não apresentou diferenças estatísticas entre as concentrações. A análise dos dados da eclosão dos ovos, testados nas diferentes concentrações do extrato etanólico, não evidenciou diferenças estatísticas, assim como, em relação a eficiência reprodutiva, mostrando eficiência no controle de oviposição por parte deste extrato em todas as concentrações, pois inibiram a formação de ovos. O mesmo padrão foi observado para a Eficiência Reprodutiva (ER), na qual em média, em termos percentuais, foram menores que os obtidos para o extrato etanólico. Em relação ao Controle de Reprodução (CR), o extrato etanólico de *P. sanguineus* apresentou valores percentuais de 3 a 4 vezes maiores do que o aquoso, chegando a 100% na concentração de 20mg/mL⁻¹. O extrato etanólico evidenciou uma inibição mais eficiente, variando de 84% à 100%. Ressalta-se, que as análises estatísticas (ANOVA-Tukey) não evidenciaram diferenças estatísticas (p>0,05) entre as médias dos tratamentos tanto para o extrato aquoso quanto para o etanólico. Os resultados evidenciaram que os compostos bioativos, encontrados no fungo amazônico *Pycnoporus sanguineus* apresenta um potencial acaricida no protocolo biológico realizado no trabalho.

INTRODUÇÃO

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806), provavelmente, seja o carrapato de mais ampla distribuição no mundo, estando presente em todos os continentes habitados por humanos e cães domésticos (WALKER *et al.*, 2000). Fundamentalmente, parasita cães, sendo denominado de carrapato castanho do cão ou do canil (URQUHART *et al.*, 1998), também é conhecido como carrapato-duro (BRUSCA e BRUSCA, 2007).

O gênero *Rhipicephalus*, de origem afrotropical, compreende 82 espécies reconhecidas no mundo e foi introduzido nas Américas, provavelmente, com a colonização. Atualmente, ocorre em toda a Região Neotropical, predominando nas áreas urbanas e acometendo, aproximadamente, 30% dos cães (GUGLIELMONE *et al.*, 2010). Com frequência, torna-se uma importante praga urbana que começa a requerer atenção das instituições de saúde pública, sendo ainda, motivo de constante preocupação entre os profissionais veterinários em seus locais de atendimento (PAZ *et al.*, 2008).

R. sanguineus é considerado um carrapato de três hospedeiros (NEVES, 2011), pois, após cada ingurgitamento, abandona seu hospedeiro e passa a uma vida livre. As fêmeas destacam-se de seus hospedeiros e procuram abrigo para proteção, onde irão ovipositar. O período de postura dos ovos pode durar vários dias (entre 10 a 20 em ambientes propícios e, de 30 a 50, em condições adversas) o desenvolvimento dos ovos varia de acordo com as condições de temperatura, fator abiótico inversamente proporcional ao tempo de duração de cada estadio de desenvolvimento, principalmente, incubação e pré-postura. No seu desenvolvimento ontogenético, a espécie possui os estágios de larva hexápoda, ninfa octópoda e adulto (NEVES, 2011, BOWMAN *et al.*, 2006)

No Brasil, o controle de carrapatos é baseado no uso de acaricidas sintéticos. Dentre os grupamentos químicos mais empregados no controle em pequenos animais, encontram-se: carbamatos, organofosforados, piretróides, formidinas, lactonas macrocíclicas e os fenilpirazóis, com modos de ação e eficácia distintos (SPINOSA *et al.*, 2006). Em função do uso excessivo e sem critérios, cepas resistentes têm sido observadas (SOARES *et al.*, 2012). A capacidade do carrapato inativar substâncias químicas é produto da seleção artificial dos indivíduos, selecionada pela utilização indiscriminada de carrapaticidas.

Tendo em vista a ampla disseminação do *R. sanguineus* pelo mundo, sua capacidade em desenvolver infestações intensas em pouco tempo no cão e, a possibilidade de veiculação de agentes infecciosos, a demanda por seu controle, particularmente, no meio urbano, é crescente (SZABÓ *et al.*, 2009).

Uma forma vantajosa para a obtenção de produtos alternativos no controle do carrapato é o uso de processos biotecnológicos, principalmente, daqueles que utilizam microrganismos, como os fungos. A região amazônica, pelas suas condições edafoclimáticas e pela ampla heterogeneidade florística, é um ambiente que favorece o crescimento dos fungos, especialmente, em substratos lignocelulolíticos. Na região existe uma grande diversidade destes organismos, mas suas potencialidades bioeconômicas têm sido pouco exploradas (JESUS *et al.* 2013) e estudadas.

Dentro da classe Basidiomicetos destaca-se a ordem Aphyllophorales, na qual se encontram os fungos conhecidos, popularmente, por orelhas-de-pau, como *Pycnoporus sanguineus* (MACEDO e PILIACKAS, 2005). O fungo de ampla ocorrência, é facilmente encontrado em regiões tropicais e subtropicais. Demonstrando o grande potencial desse fungo desde tempos muito antigos, Vargas-Isla *et al.* (2013), apontaram na literatura especializada em etnomicologia, que esse fungo era utilizado como fonte de alimento e em medicina tradicional por povos indígenas amazônicos.

Muito utilizado na biotecnologia, seus produtos atuam na bioremediação e na clarificação de efluentes da indústria papelreira, descolorização de tinturas provenientes da indústria têxtil, remoção de hormônios de corpos d'água e efluentes de indústrias farmacêuticas (GARCIA *et al.*, 2013; SALES *et al.*, 2012; MACHADO, 2006). Possui ainda propriedades antimicrobianas comprovadas (SMÂNIA *et al.*, 1998), sendo utilizados em pesquisas de tratamento de doenças que acometem plantas como a mancha angular do feijoeiro, crestamento comum (TOILLER *et al.*, 2010; VIECELLI *et al.*, 2009; BALDO *et al.*, 2011) e no controle de fungos fitopatogênicos do gênero *Fusarium*, um dos principais causadores de várias doenças em plantas, principalmente, em culturas de importância comercial (FIGUEIREDO e CASTRO E SILVA, 2014).

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Neste estudo, foi utilizado o fungo *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill, Bull.Torrey bot.Club 31(8): 421. 1904. ≡ *Boletus sanguineus* L., Sp. pl., Edn. 2: 1646. 1763 (ABRAHÃO *et al.*, 2009). Um basidiomiceto pertencente a família Poliporaceae, *P. sanguineus* é encontrado em troncos caídos ou não de quase todos os tipos de madeira decídua,

especialmente, comum em locais abertos e ensolarados sendo, facilmente, reconhecidos pelo basidioma vermelho-alaranjado.

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) é identificado pela presença de olhos com festões, palpos e hipostômios curtos e pela base do capítulo hexagonal; ventralmente, possui, como todos os representantes da família Ixodidae, carapaça que se estende no macho, por todo o dorso e, na fêmea, apenas na porção superior, devido ao dilatamento quando ocorre o ingurgitamento (URQUHART *et al.*, 1998).

Seleção e coleta do material fungico

As amostras dos carpóforos dos fungos basidiomicetos da espécie *P. sanguineus* foram coletadas no período de julho de 2013 a novembro de 2014 na zona rural e urbana do município de Parintins - AM (2°37' 42"S 56°44'11"W). Armazenadas então em sacos de papel de 3Kg, foram, prontamente, transportadas para o Laboratório. Onde foi feita a assepsia.

Secagem e processamento do material fungico

Os carpóforos foram lavados, por 30 segundos em água corrente para não ocorrer perda do material biológico, e então foram cortados, utilizando facas, e secos a temperatura de 22°C. Posteriormente, foram triturados em um moinho de facas. O material obtido foi pesado e acondicionado em sacos de papel 3Kg, contendo 50g em cada, e então armazenados em prateleira a temperatura de 22°C até sua utilização na produção dos extratos.

Obtenção dos extratos

Os extratos foram obtidos a partir de dois solventes extratores para retirada dos componentes bioativos dos carpóforos. Para a extração dos compostos foi utilizado o processo a frio. Para cada 50g de material fungico, foi adicionado 800ml de solvente (água ou etanol), as amostras foram deixadas em repouso durante 72 horas em recipientes âmbar para evitar reações químicas com a luz. Os extratos foram concentrados no evaporador rotativo para a eliminação parcial dos solventes, observando o ponto de ebulição de cada solvente (etanol= 78,5°C, água=100°C). Após a evaporação rotativa dos extratos, esses foram colocados em placa de Petri e levados a câmara de exaustão e colocados no dessecador para a eliminação

total dos solventes, em seguida os extratos brutos (massa seca) foram pesados, etiquetados e armazenados em câmara refrigerada a temperatura de 4°C para utilização posterior.

Coleta dos carrapatos

Fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, foram coletadas em animais infestados naturalmente depositados na Unidade de Controle Zoonótico do município de Parintins-AM (2°37'42" S 56°44'11" W) e com criadores de cães, no mês de novembro de 2014. Em seguida, foram levados ao laboratório, onde foram submetidos aos testes biológicos.

Avaliação do índice de oviposição (IO) e da eficiência reprodutiva (ER) das fêmeas ingurgitadas

As concentrações elaboradas, para os testes biológicos, foram de 1, 5, 10, 20mg. mL⁻¹, obtidos dos extratos brutos aquoso e etanólico de *P. sanguinues*. Para o extrato alcoólico as concentrações, separadamente, foram solubilizadas em Dimetilsulfóxido (DMSO) (500µL/mg de extrato bruto) e com água destilada foi completada a solubilização para a concentração desejada. O extrato bruto aquoso foi solubilizado em água destilada, elaborando as mesmas concentrações supracitadas.

Foram utilizadas 125 fêmeas ingurgitadas coletadas e separadas em grupos de cinco (5). Cada grupo foi pesado e imerso nas concentrações estabelecidas, durante cinco minutos, conforme metodologia proposta por Drummond *et al.* (1973). Para os tratamentos: 1 – alcoólico e 2 - aquoso, os grupos controles foram imersos em água destilada. Após o tratamento, cada grupo foi colocado em placa de Petri e levado à estufa incubadora B.O.D., temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%.

As taxas de oviposição foram avaliadas no décimo quinto dia após o tratamento. As fêmeas foram retiradas da placa e os ovos foram pesados. Os dados obtidos da pesagem foram utilizados para o calculo dos índices de oviposição (IO) conforme a formula proposta por Stendel (1980):

$$IO = \frac{PO}{PIF}$$

$$\%IO = \frac{IO(\text{controle}) - IO(\text{tratamento}) \times 100}{IO(\text{controle})}$$

Onde:

IO = Índice de Oviposição

% IO = percentual de Oviposição do tratamento

A eficiência reprodutiva (ER) e o controle de reprodução (CR) foram avaliados no décimo quinto dia após a pesagem dos ovos, conforme metodologia de STENDEL (1980), utilizando as seguintes equações:

$$ER = \frac{PO}{PIF} \times (\%E)$$

$$\%CR = \frac{ER(\text{controle}) - ER(\text{tratamento}) \times 100}{ER(\text{controle})}$$

Onde:

PIF = Peso inicial da fêmea;

PO = Peso de ovos;

E = Eclosão dos ovos (%);

ER = Eficiência reprodutiva

(%); CR = Controle de reprodução

Análise dos dados

O delineamento para avaliação dos parâmetros nos bioensaios foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, cinco repetições e o grupo controle.

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$) com o auxílio do programa GraphPad Prism® 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os gráficos foram elaborados com auxílio do mesmo software.

RESULTADOS

Inibição de oviposição de *R. sanguineus*

Para o extrato aquoso foi observado que o percentual de inibição da oviposição variou de 24,47% (concentração 20mg/mL⁻¹) até 68,65% (concentração 5 mg¹mL⁻¹). As análises estatísticas, entretanto, evidenciaram não haver diferença entre as concentrações ($p > 0,05$) (Figura1).

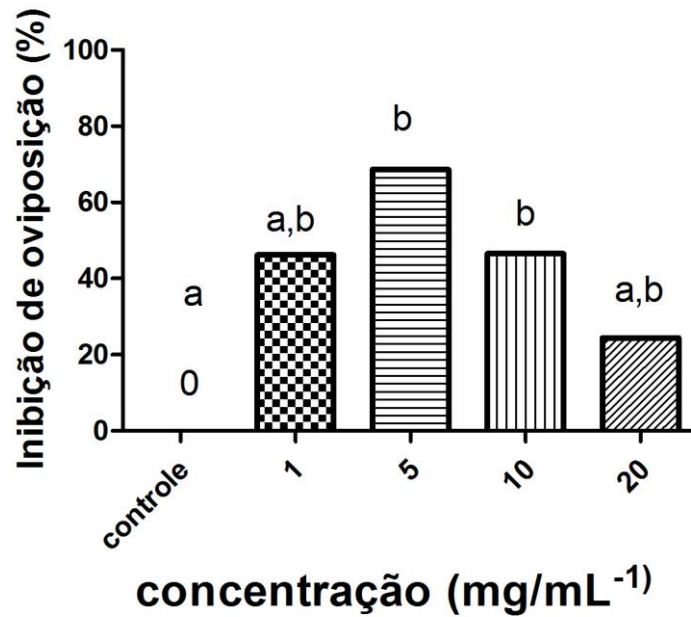


Figura 1: Percentual de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* para as concentrações de extrato aquoso de *P. sanguineus*

O menor percentual inibitório de oviposição ocorreu no extrato aquoso de *P. sanguineus* na concentração de 5 mg/mL⁻¹. De modo geral, o aumento da concentração do extrato aquoso não ocasionou um padrão crescente de inibição da oviposição.

O extrato alcoólico apresentou maior percentual de inibição de oviposição em comparação ao extrato aquoso, a inibição total (100%) ocorreu na maior concentração estudada (20 mg/mL⁻¹) (Figura 2).

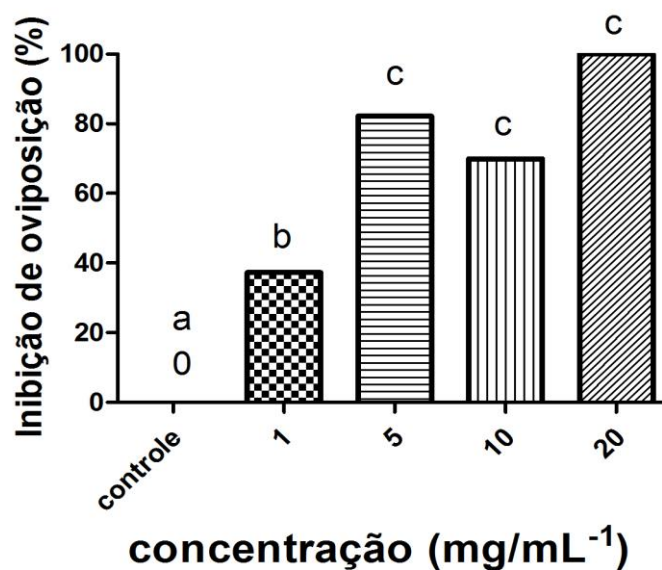


Figura 2: Percentual de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* para as concentrações de extrato alcoólico de *P. sanguineus*.

Eclosão de ovos e eficiência reprodutiva de *R. sanguineus*

A influência dos extratos de *P. sanguineus* sobre a eficiência reprodutiva e eclosão de ovos de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* é apresentada na tabela 1.

Em relação a eclosão dos ovos, para as diferentes concentrações testadas com o extrato aquoso, não foram observadas diferenças estatísticas (ANOVA - Tukey). No entanto, todas as concentrações foram eficientes na antecipação da eclosão dos ovos quando comparadas ao controle. Em relação a Eficiência Reprodutiva (ER) o extrato aquoso não apresentou diferenças estatísticas entre as concentrações.

Tabela 1. Percentual de eclosão e eficiência reprodutiva dos extratos de *P. sanguineus*

Concentração (mg.mL ⁻¹)	EXTRATO			
	Aquoso		Etanólico	
	% E	ER(%)	% E	ER (%)
1	50 a	15,94 a	11,8 a	3,96 a
5	60 a	37,01 a	9 a	1,02 a
10	49,6 a	19,76 a	10 a	2,61 a
20	54 a	18,05 a	0 a	0 a
Controle	62 a	26,25 a	62 b	26,25 b

A análise dos dados da eclosão dos ovos, testados nas diferentes concentrações do extrato etanólico, não evidenciou diferenças estatísticas, assim como, em relação a eficiência reprodutiva. Mostrando eficiência no controle de oviposição por parte deste extrato em todas as concentrações, pois inibiram a formação de ovos.

O mesmo padrão foi observado para a Eficiência Reprodutiva (ER), na qual em média, em termos percentuais, foram menores que os obtidos para o extrato etanólico.

Em relação ao Controle de Reprodução (CR), o extrato etanólico de *P. sanguineus* apresentou valores percentuais de 3 a 4 vezes maiores do que o aquoso (Figura 3), chegando a 100% na concentração de 20mg/mL⁻¹. O extrato etanólico evidenciou uma inibição mais eficiente, variando de 84% à 100%.

Ressalta-se, que as análises estatísticas (ANOVA-Tukey) não evidenciaram diferenças estatísticas ($p>0,05$) entre as médias dos tratamentos tanto para o extrato aquoso quanto para o etanólico.

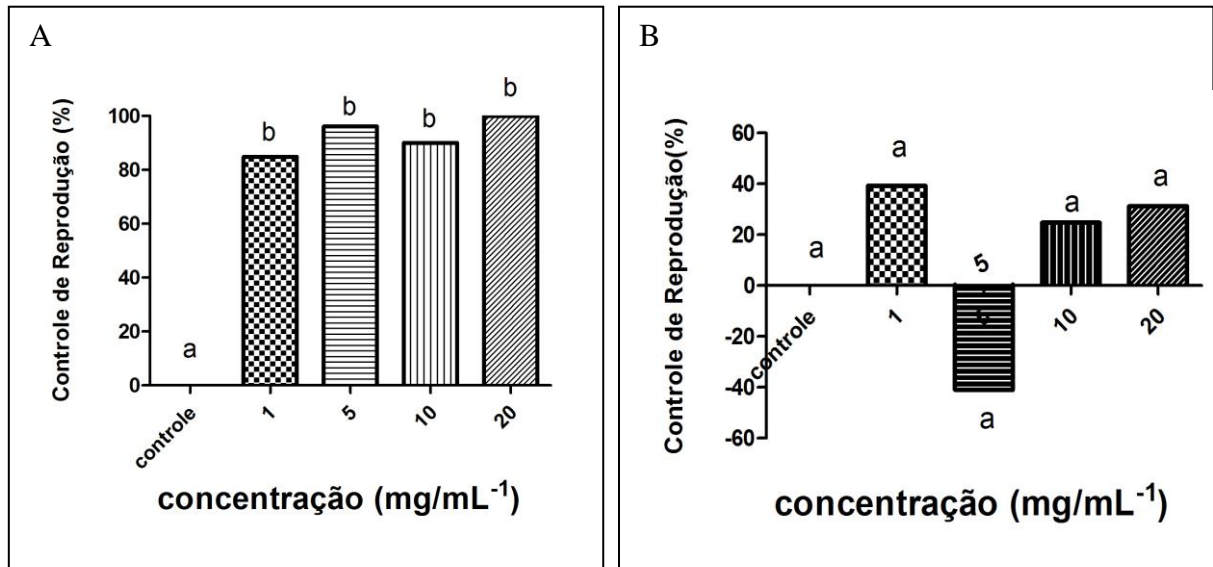


Figura 3: Percentual de Controle de Reprodução (CR) do extrato de *P. sanguineus*. (A) extrato etanólico (B) extrato aquoso.

DISCUSSÃO

O fungo *Pycnoporus sanguineus* possui uma atividade antimicrobiana, reconhecida pela presença da substância cinabarina (SÂMÂNIA *et al.*, 1998), Entretanto, existem poucos trabalhos sobre o efeito de metabólitos de fungos com atividade acaricida. Testes de toxicidade realizados com camundongos (*Mus musculus*) mostraram que substâncias presentes no fungo *Pycnoporus sanguineus* não afetam, negativamente, animais (SMÂNIA JR *et al.*, 2003). Os resultados deste estudo mostraram a eficiência acaricida dos extratos aquoso e etanólico do carpóforo de *P. sanguineus* em relação a inibição da oviposição e eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, o que permite inferir, corroborando Smânia *et al.* (2003), que esta atividade, possivelmente, não provocaria danos aos animais vertebrados.

A eficiência sobre o índice de oviposição demonstrado neste estudo para os extratos de *P. sanguineus* são comparáveis a resultados obtidos com extratos vegetais. Machado *et al.* (2013) utilizando extratos aquoso, etanólico e de acetato de etila de *Lonchocarpus floribundus* (Timbó) sobre fêmeas ingurgitadas de carrapatos do gênero *Rhipicephalus*, atingiu a inibição

de 100% de oviposição em altas concentrações. Os resultados deste trabalho, entretanto, evidenciaram o mesmo percentual de inibição em concentrações menores (5, 10, 20 mg/mL⁻¹).

Farias *et al.* (2012), estudando óleo de semente de *Carapa guianensis* (Andiroba) obteve, na concentração 20%, a inibição da oviposição de 100%, resultado semelhante ao obtido com o extrato alcoólico na presente pesquisa, na mesma concentração. O mesmo ocorreu no estudo de Pires *et al.* (2007), que testaram o extrato aquoso de *Simarouba versicolor*, St. Hill.

O óleo de *Azadirachta indica* (Nim), em diversas concentrações, foram analisadas por Fernandes *et al.*, (2010) em testes de imersão de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, e obtiveram uma inibição do índice de oviposição em torno de 3%, concentração menor em comparação aos resultados obtidos no presente trabalho, que obteve uma inibição de 46% para extrato aquoso e de 72% para o extrato alcoólico nesta concentração.

Broglio-Micheletti *et al.*(2009) trabalhando com extratos orgânicos alcoólicos na concentração 2% de várias partes, de diferentes vegetais, demonstrou a inibição de oviposição mais eficiente para o extrato de semente de *Annona muricata* L.(Annonaceae) (graviola) com valores chegando a 100%, valor que, neste estudo, foi obtido com o extrato alcoólico na concentração de 20 mg/mg⁻¹.

Lazáro *et al.* (2012), entretanto, testando extrato vegetal aquoso de *Calotropis procera* Aiton (algodão de seda) para o controle reprodutivo de carrapato do gênero *Rhipicephalus*, obtiveram controle de 98,5 % na concentração 5%, em comparação aos resultados o extrato alcoólico obteve 100% de controle reprodutivo na concentração de 20mg/mL⁻¹.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram resultados similares aos encontrados por Farias *et al.* (2012) que estudaram o efeito do óleo de *Carapa guianensis* (Andiroba) na interrupção do ciclo reprodutivo de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Anocentor nitens* e *Rhipicephalus sanguineus* (acari: ixodidae).

Em comparação aos acaricidas sintéticos comerciais mais utilizados no controle de carrapatos, o extrato alcoólico obteve um resultado semelhante a pesquisa de Silva *et al.* (2005), que obtiveram um controle de 100% com Amitraz. Ressalta-se que este composto pertence ao grupo das formamidinas (ou amidinas), substância utilizada no controle do carrapato bovino, que possui uma toxicidade mínima para bovinos e humanos, não apresentando período de retenção na musculatura desses animais (JONSSON; HOPE, 2007). Estudando os efeitos dos acaricidas Amitraz 12,5% e cipermetrina para o gênero *Rhipicephalus*, Vita *et al.* (2014) obtiveram controle de 100% na concentração de 1:10, acima da diluição indicada pelo fabricante (1:500). Enquanto Nakatani *et al.* (2012) utilizando

acaricidas comerciais puros e associações entre eles, para o mesmo gênero, obtiveram 100% de controle apenas com Triclorfon, o restante dos acaricidas e, de suas associações, obtiveram um controle abaixo de 85%.

Em carrapatos ixodídeos, cada teleógina ingere em torno de três mililitros de sangue durante o parasitismo em determinado hospedeiro e, transforma 60% de sua massa corporal em ovos (GONZÁLES, 2002). O sangue ingerido é digerido intracelularmente, sendo a maioria das proteínas do sangue ingerida, convertida em vitelogenina (OBENCHAIN; GALUN, 1982). Essa proteína é componente principal do vitelo e, é responsável pelo amadurecimento dos ovócitos. Compostos presentes nos extratos aquoso e alcoólico de *P. sanguineus* podem estar inibindo a produção da vitelogenina ou a conversão de sangue na proteína, sabendo-se que o amadurecimento dos ovócitos não possui uma sincronia, podendo ser encontrado em uma mesma fêmea, diferentes fases de desenvolvimento.

Outra possível forma de ação dos extratos aquoso e alcoólico de *P. sanguineus* na diminuição significativa do índice de oviposição, pode ser comparada a ação das formamidinas, que segundo Spinosa *et al.* (2006), agem inibindo a liberação dos ovos de teleóginas, impedindo a contração da musculatura genital, conseqüentemente, diminuído a massa de ovos liberada pela fêmea ingurgitada de *R. sanguineus*.

Os resultados obtidos na pesquisa mostram uma eficiência do extrato alcoólico frente a eficiência reprodutiva do *R. sanguineus*, obtendo um controle 100% na concentração 20%. Ressalta-se que Ministério da Agricultura (BRASIL, 1990) considera eficaz quando a eficiência do carrapaticida é igual ou superior a 95%, para ser utilizado de forma efetiva no controle parasitário.

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram que os extratos aquoso e alcoólico do carpóforo de *P. sanguineus* diminuíram a ovipostura de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. Sugere-se que, em futuros estudos, realizados com a espécie, sejam abordados temas sobre a composição química do extrato de carpóforos de *P. sanguineus*, evidenciando princípios ativos responsáveis por sua ação acaricida, permitindo a legalização de patentes e, conseqüente, regularização de produtos derivados.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que os extratos aquosos e etanólicos obtidos de carpóforos de *P. sanguineus* possuem atividade acaricida no carrapato canino *Rhipicephalus sanguineus*. Sua utilização resulta na inibição da oviposição e,

consequentemente, uma acentuada redução da atividade reprodutiva da espécie. A concentração indicada para o controle do carrapato é a de 5%, obtida no extrato alcoólico, concentração que atingiu os níveis ótimos de controle. A abundância desta espécie de fungo na Amazônia e, a facilidade de obtenção destes extratos, fazem da espécie *P. sanguineus* um potencial a ser explorado, não apenas economicamente, mas com benefícios ecológicos gerados pela substituição de produtos químicos sintéticos, reconhecidamente, danosos ao ambiente. Em estudos futuros, é fundamental que seja determinada a composição destes extratos, evidenciando os compostos químicos responsáveis pela ação acaricida observada.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, M. C; GUGLIOTTA, A. M; GOMES, E. Poliporóides (Basidiomycota) em fragmentos de mata no perímetro urbano de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, V.32, n.3, p.427-440, jul.-set. 2009.

BALDO, M; STANGARLIN, J. R; FRANZENER, G; ASSI, L; KUHN, O. J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Detecção in situde espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 174-179, 2011.

BOWMAN, D. D; LYNN, R. C; EBERHARD, M. L; ALCATROZ, A. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. 8 ed. Barueri: Manoli, 2006.

BRASIL. 1990. Ministério da agricultura. Portaria n. 90 de 04 de dezembro de 1989. **Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários**. Diário oficial, sec. 1, col. 2. Edição de 22/01/1990.

BROGLIO-MICHELETT, S. M. F; VALENTE, E. C. N; SOUZA, L. A; DIAS, N. S; ARAÚJO, A. M. N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 44-48, out.-dez. 2009. ISSN 1984-2961 (eletrônico). doi:10.4322/rbvp.01804008.

BRUSCA, R. C; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

DRUMMOND, R.O.; ERNEST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAN, O.H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

FARIAS, M.P.O; WANDERLEY, A.G; ALVES, L.C; FAUSTINO, M.A.G. Cálculo da CI_{50} (concentração inibitória média) e CL_{50} (concentração letal média) do óleo da semente de andiroba (*Carapa guianensis*, aubl.) sobre *Rhipicephalus (boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887), *Anocentor nitens* (NEUMANN, 1897) e *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (Acari: Ixodidae). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.79, n.2, p.255-261, abr./jun., 2012

FERNANDES, J. I; CORREIA, T. R; RIBEIRO, F. A; CID, Y. P; TAVARES, P. V; SCOTT, F. B. Eficácia in Vitro do Nim (*Azadirachta indica*) no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE). **Rev. Bras. Med. Vet.**, 32(Supl. 1):64-68, 2010.

FIGUEIREDO, A; CASTRO E SILVA, A. Atividade “in vitro” de extratos de *Pycnopus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazonica**, VOL. 44(1) 2014: 1 – 8.

GARCIA, L. F; GOLVEIA, J. C. S; SANTIAGO, M. F. Remoção do hormônio sintético etinilestradiol pelo fungo *Pycnopus sanguineus*. **Revista de Biotecnologia e ciência: Goiás**, Vol. 1CFBC , Nº. 2, 2013.

GONZÁLES, J.C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Can. 1887) (Revisão histórica e conceitual). **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 23-28, 2002.

GUGLIELMONE, A. A; ROBBINS, R. G; APANASKEVICH, D. A; PETNEY, T.N; ESTRADA-PEÑA, A; HORAK, I. G; SHAO, R; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, 2528: 1–28, 2010.

JESUS, M. A; BASTOS, V. I. S; COSTA, J. S. Biodiversidade de macrofungos da região amazônica: potencial alimentar. Manus. Anais do VII simpósio internacional sobre cogumelos no Brasil e VI simpósio Nacional sobre cogumelos comestíveis. p. 124-128, 2013.

JONSSON, N. N; HOPE, M. Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, v.146, p.193–198, 2007.

KASSAB, S. O; FONSECA, P. R. B; ROSSONI, C; BARBOSA, R. H; LOUREIRO, E. S. Isolados de fungos entomopatogênicos no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). **Revista Verde**, Mossoró – RN. v.6, n.3, p.222 - 225 julho/setembro de 2011.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Controle biológico de insetos mediante extratos botânicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). *Controle biológico de pragas agrícolas*. Managua: CATIE, 2004. p.137-160. (Série Técnica – Manual Técnico 53).

LÁZARO, S.F.; FONSECA, L.D.; FERNANDES, R.C.; TOLENTINO, J.S.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R. Efeito do extrato aquoso do algodão de seda (*Calotropis procera* Aiton) sobre a eficiência reprodutiva do carrapato bovino. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.14, n.2, p.302-305, 2012.

MACEDO, Amanda F.; PILIACKAS, José M. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Fungos Pertencentes à Família *Polyporaceae*. **Anais do XI Simpósio Multidisciplinar da USJT**. São Paulo: USJT, 2005.

MACHADO, A. F; CASTRO E SILVA, A; RIBEIRO, H. C. T; PROCÓPIO, A. R. L; PINHEIRO, C. C. S; MARTINS, J. R. S; SILVA, W. C. Atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino. **Acta Amazônica**. VOL. 43(2) 2013: 135 – 142.

MACHADO, K. M. G; COMPART, L. C. A; MORAIS, R. O; ROSA, L. H; SANTOS, M. H. Biodegradation of Reactive Textile dyes by Basidiomycetous Fungi from Brazilian Ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology** (2006) 37:481-487. ISSN 1517-8283.

NEVES, David P. **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011

OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. Physiology of Ticks. Tick Reproduction: Oogenesis and Oviposition, ed. Pergamon Press: New York, v. 1, p. 277-350, 1982.

PAZ, G. F; LEITE, R. C; OLIVEIRA, P.R. Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1986) (Acari: Ixodidae) no canil de veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 17, 1, 41-44 (2008).

PIRES, J. E. P; FERNANDES, R.M; FERNANDES,M.Z.L.C.M; VIANA, G.E.N; DOURADO, J.C.L; SOUSA, S.A.A. Determinação da concentração inibitória média (CI50) do extrato aquoso de *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrine, 1887). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.4, p.23-26, 2007.

SALES, P. T. F; CAMPOS, L. C; SCHIMIDT, F; VALADARES, M. C; SANTIAGO, M. F. Estudo da tratabilidade de efluente da indústria farmacêutica por meio dos fungos *Pycnoporus sanguineus*, *Schizophyllum commune* e fotocatalise. **Revista Eletrônica de Engenharia Civil** Vol 5 - nº 1, 56-74, 2012.

SAMÂNIA JR, A; MARQUES, C. J. S; SMÂNIA, E. F. A; ZANETTI, C. R; CAROBREZ, S. G; TRAMONTE, R; LOGUERCIO-LEITE, C. Toxicity and antiviral activity of Cinnabarin obtained from *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. **Phytotherapy Research**. 17, 1069-1072. 2003. DOI 10.1002/ptr. 1304.

SILVA, W. W; ATHAYDE, A. C. R; ARAÚJO, G. M B; SANTOS, V. D; SILVA NETO, A. B. Resistência de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) a carrapaticidas no semi-árido paraibano: efeito da cipermetrina e do amitraz. *Agropecuária Científica no Semi-árido* 01 (2005) 59-62.

SMÂNIA, E. F. A; SMÂNIA JR, A; LOGUERCIO-LEITE, C. CINNABARIN SYNTHESIS BY *PYCNOPORUS SANGUINEUS* STRAINS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST BACTERIA FROM FOOD PRODUCTS. **Rev. Microbiol.** vol. 29 n. 4 São Paulo Oct./Dec. 1998. doi.org/10.1590/S0001-37141998000400017.

SOARES, D. B; MARTINS, M. M; GERARDI, M; RAMO, V. N. Distribuição sazonal do *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Vet. Not.**, Uberlândia, v.18. n. 2 (supl.), p. 27-30, jul-dez. 2012.

SPINOSA, H. S; GÓRHIK, S. L; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

STENDEL, W. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.51, n.3, p.147-152, 1980.

SZABÓ, M. P. J; GARCIA, C. A; SILVA, T. L; OLEGÁRIO, M. M; CAMPOS, V. A; CASTRO, I. P. Efeito Acaricida da Mistura Oxigênio - Ozônio Sobre o Carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. **Vet.Not**, Uberlândia, v.15. n.2, jul./dez. 2009.

TOILLIER, S. L; IURKIV, L; MEINERZ, C. C; BALDO, M; VIECELLI, C. A; KUHN, O. J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F; STANGARLIN, J. R. Controle de Crestamento Bacteriano Comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*) e Alterações Bioquímicas em Feijoeiro Induzidas por *Pycnoporus Sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.99-110, jan./mar., 2010.

URQUHART, G. M; ARMOUR, J; DUNCAN, J. L; DUNN, A. M; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VARGAS-ISLA, R; ISHIKAWA. N K; PY-DANIEL, V. Contribuições etnomicológicas dos povos indígenas da Amazônia. **Biota Amazônia**: Macapá, v. 3, n. 1, p. 58-65, 2013.

VIECELLI, C. A; STANGARLIN, J. R; KUHN, O. J; .Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnopus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology** 34 (2) March - April 2009.

VITA, G. F; DUMAS, E; PEREIRA; M. A. V. C; FERREIRA, I. Avaliação *in vitro* de carrapaticidas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887), no norte do estado do Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2012. **40(2): 1032**. ISSN 1679-9216 (Online).

WALKER, J.B.; KEIRANS, J.E.; HORAK, I.G. The Genus *Rhipicephalus*(Acari, Ixodidae). A guide to the brown ticks of the world. **Cambridge University Press**, Cambridge, 2000, 643p.