

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ESA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS - MBT**

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DE TIMBÓ (*Lonchocarpus floribundus*)
SOBRE CARRAPATO BOVINO**

AARON FERREIRA MACHADO

**PARINTINS
2012**

Ficha Catalográfica

M214 Machado, Aaron Ferreira
Atividade biológica de timbó (*Lonchocarpus floribundus*)
sobre carrapato bovino. / Aaron Ferreira Machado -- Manaus:
Universidade do Estado do Amazonas, 2012.
Xiv, 47f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado Amazonas
- Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos
Naturais da Amazônia, 2012. Orientador: Prof. Dr. Wilson
Castro Silva.

1. Extratos vegetais. 2. Carrapato. 3. Fêmeas ingurgitadas.
4. Acaro 5. *Boophilus* I. Título

CDU:604

AARON FERREIRA MACHADO

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DE TIMBÓ (*Lonchocarpus floribundus*)
SOBRE CARRAPATO BOVINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade do Estado do Amazonas, para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Castro Silva

**PARINTINS
2012**

PARECER

Os membros da Banca Examinadora, designada pela Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentada pelo candidato Aaron Ferreira Machado, sob o título “Atividade biológica de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino”, para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Após análise do referido trabalho e arguição do candidato, os membros são de parecer pela **APROVAÇÃO** da Dissertação.

Manaus, 13 de fevereiro de 2012

Prof. Dr. Jefferson da Cruz
Universidade Federal do Amazonas – Membro Titular

Prof. Dr. Salim Jacaúna de Souza Júnior
Instituto Federal do Amazonas – Membro Titular

Prof. Dr. Wilson Castro Silva
Presidente da Banca e Orientador

Dedico

A meus pais Agenor Ribeiro Machado e Luiza Carmem Cabral Ferreira por me darem amor, carinho, amizade, compreensão e lição de vida; e ao meu orientador, que além da preciosa contribuição neste trabalho, ensinou-me o significado das palavras honra, orgulho e persistência.

Agradecimentos

Ao prof. Dr. Wilson Castro Silva, pesquisador da Universidade do Estado do Amazonas e da Universidade Nilton Lins, meu orientador, pela acolhida e oportunidade que me concedeu de desenvolver esta Dissertação sob sua orientação; pelos ensinamentos e, principalmente, pela confiança e amizade.

À Dra. Claudia Cândida da Escola Superior do Estado do Amazonas – UEA e aos pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia Dr. Carlos Cleomir e Dra. Iléa Brandão pelos ensinamentos durante a preparação dos extratos, os quais foram imprescindíveis para a conclusão deste trabalho.

A Raquel da Silva Corrêa por indicar o local de coleta das raízes.

Ao Marcos Alexandre Bolson, técnico do Laboratório temático de química de Produtos Naturais/Bioprospecção, pelo auxílio na preparação dos extratos.

Ao Dr. João Ricardo Martins, pesquisador do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), pelos valiosos ensinamentos e contribuição na cessão dos ácaros para os testes biológicos;

Às colegas de curso de Mestrado Adriana Nunes, Paula Valente, Vanessa Gallucio, Elaine Soares, Adrya Figueiredo e Izabel Santos pelo companheirismo e amizade.

Às colegas de laboratório, em especial à Anelise Webster, Ugo Souza, Ramon Scheffer e Marjana Traesel pelo apoio e companheirismo.

Ao Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), em especial ao Dr. João Lúcio de Azevedo e ao Dr. Rudi Emerson de Lima Procópio, pela contribuição na elaboração dos extratos vegetais.

A minha família, em especial a meus pais Agenor e Luiza Carmem. Foram vocês que com grandes dificuldades deram as maiores jóias que um filho pode receber: vida e educação.

Aos professores do curso de Pós Graduação Dr. Ademir Castro e Silva, Dra. Helena Camarão e Dr. Aldo Procópio. Suas considerações e sugestões foram decisivas para a efetivação deste trabalho, bem como, dos demais que não puderam estar neste material.

À Anagilce Sampaio Bentes, pessoa fundamental e de grande importância na minha vida.

Aos amigos Paulo Roberto, Luiz Paulo, Marcelo, Helder e Ronald pelo incentivo, força, e amizade que partilhamos durante nosso caminhar.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pela concessão da bolsa de estudo.

A Universidade do Estado do Amazonas pela oportunidade que me concedeu de cursar o Mestrado.

E, finalmente, a todas as pessoas que acreditam e trabalham buscando uma forma de cura mais saudável para homens e animais.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 O carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	2
1.1.1 Considerações gerais.....	2
1.1.2 Ciclo de vida do carrapato bovino.....	4
1.1.3 Resistência de <i>R. (B.) microplus</i> a acaricidas sintéticos.....	5
1.1.4 Controle de <i>R. (B.) microplus</i>	6
1.2 Plantas e acaricidas sintéticos que apresentam atividade sobre <i>R. (B.) microplus</i>	8
1.3 O gênero <i>Lonchocarpus</i> e outros timbós.....	9
2 OBJETIVOS	12
2.1 Geral.....	12
2.2 Específicos.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Seleção e coleta do material botânico.....	13
3.2 Identificação do material botânico.....	13
3.3 Secagem e processamento do material botânico.....	13
3.4. Obtenção dos extratos.....	14
3.4.1. Extrato aquoso.....	15
3.4.2. Extrato acetato de etila e etanólico.....	15
3.5 Coleta dos carrapatos.....	16
3.6 Origem dos bovinos.....	16
3.7 Carrapatos e infestações.....	16
3.8. Avaliação acaricida de <i>L. floribundus</i>	17
3.8.1. Avaliação acaricida sobre fêmeas ingurgitadas.....	17

3.8.2. Avaliação acaricida sobre larvas.....	19
3.9 Análise dos Dados.....	20
4 RESULTADOS.....	21
4.1 Atividade acaricida do extrato acetato de etila de <i>L. floribundus</i> sobre fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i>	21
4.2 Atividade acaricida do extrato etanólico de <i>L. floribundus</i> sobre fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i>	24
4.3 Atividade acaricida do extrato aquoso de <i>L. floribundus</i> sobre fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i>	27
4.4 Comparação dos percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas e larvas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extratos de <i>L. floribundus</i>	30
4.5 Comparação dos percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extratos de <i>L. floribundus</i>	32
4.6 Eficiência reprodutiva e controle de reprodução de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> expostas a extratos de <i>L. floribundus</i>	33
5 DISCUSSÃO.....	34
6 CONCLUSÕES.....	38
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade (%M) de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de <i>L. floribundus</i>	31
Tabela 2 - Porcentagem de mortalidade (%M) para as larvas de <i>R. (B.) microplus</i> expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de <i>L. floribundus</i>	31
Tabela 3 - Tabela 3 – Toxicidade de extratos vegetais para larvas de <i>R. (B.) microplus</i> (concentração letal mediana – CL ₅₀).....	31
Tabela 4 – Percentual de inibição de oviposição (%IO) de fêmeas ingurgitadas do carrapato <i>R. (B.) microplus</i> expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de <i>L. floribundus</i>	32
Tabela 5 – Toxicidade de extratos vegetais para fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> (concentração inibitória mediana – CI ₅₀).....	32
Tabela 6 - Percentual de eficiência reprodutiva (%ER) e percentual de controle de reprodução (%CR) de fêmeas igurgitadas do carrapato <i>R. (B.) microplus</i> expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de <i>L. floribundus</i>	33

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1 – Fêmea de <i>R. (B.) microplus</i> ovipositando. Foto: Machado, A.F., 2011.....	2
Figura 2 - Ciclo de vida simplificado do <i>R. (B.) microplus</i> 1- larva infestante realizando a fixação no bovino; 2- ninfa; 3- teleógina em estágio final de ingurgitamento (Fase parasitária); 4- teleógina logo após desprendimento, em período de postura no solo; 5- ovos, no solo, em período de incubação; 6- larva, no solo, em período de incubação (Fase de vida livre) (ANDREOTTI, 2002).....	4
Figura 3 – <i>L. Floribundus</i> . Foto: Machado, A.F.....	10
Figura 4 - Raízes de timbó, distribuídas em folha de jornal, para secagem em temperatura ambiente. Foto: Corrêa (2006).....	14
Figura 5 – Raízes trituradas de <i>L. Floribundus</i> sob maceração durante 48 h. Foto: Machado, A.F. (2010).....	14
Figura 6 – Filtragem de extrato de <i>L. floribundus</i> . Foto: Machado, A.F. (2010).....	14
Figura 7: Liofilizador em processo de desidratação do filtrado, para obtenção do extrato aquoso bruto. Foto: Machado, A.F. (2010).....	15
Figura 8 - Evaporador rotativo (A) e capela de fluxo laminar (B). Foto: Machado, A.F. (2010).....	16
Figura 9 - Bovinos oriundos do município de Santa vitória do Palmar - RS em isolamento. Foto: Machado, A.F. (2011).....	16
Figura 10 - Seringa contendo aproximadamente 2500 larvas Machado, A.F. (2011).....	17
Figura 11 - Infestação de bovinos com larvas de <i>R. (B.) microplus</i> na região da inserção da calda (A) e no dorso (B). Foto: Machado, A.F. (2011).....	17

Figura 12 – Delineamento experimental para bioensaios utilizando fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> . Foto: Machado, A.F. (2011).....	18
Figura 13 – Larvas de <i>R. (B.) microplus</i> . Foto: Machado, A.F. (2011).....	19
Figura 14 – larvas de <i>R. (B.) microplus</i> imersas nos extratos em tubo de eppendorf. Foto: Machado, A.F. (2011).....	19
Figura 15 – A. Envelope contendo as larvas tratadas; B. Condicionamento em estufa incubadora tipo B.O.D. a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5 %; C. Contagem das larvas vivas e mortas. Fotos: Machado, A.F. (2011).....	20
Figura 16 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extrato acetato de etila de raízes de <i>L. floribundus</i>	21
Figura 17 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extrato acetato de etila de raízes de <i>L. floribundus</i>	22
Figura 18 – Médias de mortalidade de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> submetidas a concentrações de extrato acetato de etila de raízes de <i>L. floribundus</i>	23
Figura 19 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extrato etanólico de raízes de <i>L. floribundus</i>	24
Figura 20 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extrato etanólico de raízes de <i>L. floribundus</i>	25
Figura 21 – Médias de mortalidade de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> submetidas a concentrações de extrato etanólico de raízes de <i>L. floribundus</i>	26
Figura 22 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>L. floribundus</i>	27

Figura 23 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*..... 28

Figura 24 – Médias de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* submetidas a concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*..... 29

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o ectoparasita mais importante para pecuária nacional. Esse ácaro causa grandes prejuízos econômicos, estimados em torno de dois bilhões de dólares, à pecuária brasileira. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de raízes de *Lonchocarpus floribundus* sobre o carrapato bovino *R. (B.) microplus*. Para avaliar a atividade acaricida sobre fêmeas ingurgitadas, foram coletados carrapatos adultos em bovinos infestados artificialmente. Os carrapatos foram separados em grupos de dez indivíduos, pesados e imersos, separadamente, nos extratos de raízes de *L. floribundus*, nas concentrações de 5, 25, 50, 75 e 100 mg.ml⁻¹, durante cinco minutos. Para a avaliação em larvas, foram utilizados indivíduos de 14 a 21 dias, os quais foram imersos nos extratos nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mg.ml⁻¹. Após o tratamento, cada grupo foi colocado em estufa incubadora tipo B.O.D. a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%. As taxas de mortalidade de fêmeas ingurgitadas e larvas foram avaliadas durante seis dias e 24 horas respectivamente. As taxas de oviposição foram avaliadas no décimo quinto dia após os tratamentos. A eficiência reprodutiva e controle de reprodução foram avaliados no décimo quinto dia após a pesagem dos ovos. O experimento foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, cinco repetições e um grupo controle. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey (P < 0,05). Os extratos avaliados não foram suficientemente tóxicos para induzir mortalidade de fêmeas ingurgitadas acima de 50%. Os extratos acetato de etila e etanólico induziram 100% de mortalidade de larvas. Entretanto, quanto aos valores de concentração letal mediana (CL₅₀), o extrato etanólico (CL₅₀ = 2,13 mg.ml⁻¹) foi mais tóxico que o extrato acetato de etila (CL₅₀ = 4,09 mg.ml⁻¹). O extrato etanólico estimou CI₅₀ de 3,03 mg.ml⁻¹, sendo mais tóxico que os demais extratos quanto a este parâmetro de avaliação. Entre os três extratos avaliados, os extratos acetato de etila e etanólico apresentaram os melhores resultados quanto ao controle de reprodução de *R. (B.) microplus*, atingindo 100% na concentração de 5 mg.ml⁻¹. Os extratos de raízes de *L. floribundus* apresentaram atividade biológica sobre carrapato bovino.

Palavras - chave: Extratos vegetais, carrapato, fêmeas ingurgitadas, ácaro, Boophilus.

ABSTRACT

The tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is the most important ectoparasite national livestock. This mite cause large economic losses, estimated to be about two billion dollars, to the Brazilian livestock. The aim of this work was to evaluate the biological activity of ethyl acetate, ethanol and aqueous extracts of *Lonchocarpus floribundus* roots on catte tick *R. (B.) microplus*. To evaluate the acaricidal activity on engorged females were collected adults ticks in cattle artificially infested. The ticks were separated into groups of ten individuals, weighed and immersed in *L. floribundus* roots extracts at concentrations of 5, 25, 50, 75 and 100 mg.ml⁻¹ for five minutes. For the evaluation larvae, individuals were used from 14 to 21 days, which were immersed in the extracts at concentrations of 1, 5, 10, 15 and 20 mg.ml⁻¹. After treatment each group was placed in incubator B.O.D. at 27 ± 1 °C and relative humidity of 80 ± 5%. Engorged females and larvae mortality rates were evaluated for six days and 24 hours respectively. Oviposition rates were evaluated over fifteenth day after the treatments. Reproductive efficiency and control of reproduction were evaluated over fifteenth day after weighing eggs. The experiment was completely randomized with five treatments, five replicates and a control group. The data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test (P < 0.05). The extracts evaluated were not toxic enough to induce mortality of engorged females over 50%. The ethyl acetate and ethanol extracts induced 100% mortality of larvae. However for values of median lethal concentration (LC₅₀), the ethanol extract (LC₅₀ = 2.13 mg.ml⁻¹) was more toxic than the ethyl acetate extract (LC₅₀ = 4.09 mg.ml⁻¹). The ethanol extract estimated IC₅₀ of 3.03 mg.ml⁻¹ and it was more toxic than the other extracts on this parameter. Among the three extracts evaluated, the ethyl acetate and ethanol extracts showed the best results for the control of reproduction of *R. (B.) microplus*, reaching 100% at concentration of 5 mg.ml⁻¹. The *L.floribundus* roots extracts showed biological activity on cattle tick.

Keywords: Vegetable extracts, tick, engorged females, mite, Boophilus.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, totalizando 205.292 milhões de cabeças no ano de 2009 (IBGE, 2010), sendo que o agronegócio de carne bovina sustenta, no Brasil, algumas dezenas de segmentos industriais diferentes, produzindo 10 milhões de toneladas de alimentos, respondendo por 20 milhões de empregos e injetando U\$\$ 5,1 bilhões na economia, somente por meio das exportações. Com a inclusão do beneficiamento e comércio do couro, as exportações alcançaram U\$ 9,2 bilhões em 2009 (ROSA, 2009).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o ectoparasita mais importante para pecuária nacional. Esse ácaro causa grandes prejuízos econômicos, como a diminuição na produção de leite, no ganho de peso, na natalidade e na qualidade do couro, sendo importante, também, na transmissão de doenças que ocasionam eventuais mortes no rebanho (SOUTELLO, 2008).

O uso de acaricidas sintéticos é o principal instrumento de controle de *R. (B.) microplus* (VARGAS et al., 2003; LABRUNA, 2008). Esses químicos sintéticos caracterizam-se por apresentarem alta toxicidade, aumento de riscos para a saúde humana, contaminação de nascentes dos rios e diminuição da biodiversidade (MELO e AZEVEDO, 2000; LACEY et al., 2001), além de que o uso inadequado desses produtos, muitas vezes devido a falta de um plano de orientação aos pecuaristas, ocasiona o aparecimento da resistência em populações de carrapatos no campo.

O uso de extratos vegetais é um dos métodos alternativos de controle do ácaro bovino que vem sendo pesquisado. O uso de plantas tóxicas e medicinais no controle de pragas é de grande importância para a agricultura e para o desenvolvimento sustentável. A grande diversidade de plantas encontradas na Amazônia possibilita a pesquisa de novos produtos que poderão vir a substituir ou diminuir o uso de acaricidas sintéticos (SILVA, 2008).

Na Amazônia, existem inúmeras plantas que se destacam pelo grande potencial econômico por apresentarem, nas suas composições químicas, metabólitos secundários

com atividades inseticida, acaricida, fungicida e bactericida, dentre elas, a espécie *Lonchocarpus floribundus* (CORRÊA, 2006).

A investigação de possibilidades de manejo, utilizando recursos de origem natural, para controlar o carrapato dos bovinos, como o uso de moléculas vegetais com potencial acaricida, poderá proporcionar o desenvolvimento de métodos viáveis para reduzir a contaminação química na pecuária e minimizar um dos grandes problemas enfrentados pelos pecuaristas: o aumento da resistência de *R. (B.) microplus* aos acaricidas sintéticos.

1.1 O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

1.1.1 Considerações gerais

De acordo com Corrêa (1976), os carrapatos são animais metazoários de simetria bilateral, pertencentes ao filo Artropoda, classe Arachnida, ordem Acarina, superfamília Ixodoidea, Família Ixodidae. Estudos de filogenia molecular mostraram evidências de que o gênero *Rhipicephalus* inclui as cinco espécies de *Boophilus*, sendo esta considerada um subgênero de *Rhipicephalus* (MURRELL e BARKER, 2003).



Figura 1 – Fêmea de *R. (B.) microplus* ovipositando. Foto: Machado, A.F., 2011.

O carrapato Bovino *R. (B.) microplus* foi introduzido na maioria dos países tropicais e subtropicais com as primeiras importações de bovinos zebuínos (*Bos indicus*), provenientes do continente asiático, do qual o carrapato é originário. Este ácaro encontra-se distribuído nos rebanhos da América, África, Ásia e Oceania entre os paralelos 32° Norte e 32° Sul (HOOGSTRAL, 1985; GONZALES, 1975; LEAL et al., 2003) e representa o maior interesse econômico entre as espécies de ixodídeos no continente sul, centro americano e México (MARTINS et al., 2006), sendo que seu desenvolvimento se completa em duas fases: uma parasitária, que ocorre sobre o hospedeiro ingerindo linfa, substratos teciduais e sangue; e outra de vida livre, no solo, após abandonar seu hospedeiro. Seu ciclo de vida consiste em três fases: larva, ninfa e adulto (ROCHA, 1997; PEREIRA e LABRUNA, 2008). Suguisawa e Soutello (2004) reportam que o carrapato bovino *R. (B.) microplus* é um parasita hematófago, que ingere 0,5 a 3 ml de sangue ao longo de sua vida, comumente encontrado em regiões intertropicais (cerca de 74% do território na América Latina e aproximadamente 96% nos municípios brasileiros).

De acordo com Gonzales (2003), além de outros fatores ambientais, como temperatura ambiente e umidade relativa, as condições de maior ou menor alagamento do terreno exercem forte influência sobre a biologia dos ixodídeos. Apesar de ser uma espécie típica de bovinos, outros animais podem vir a servir como hospedeiros alternativos para *R. (B.) microplus*, como equinos, ovinos, bubalinos (GONZALES, 1975), caprinos (PRATA et al., 1999), caninos (FRANQUE et al., 2007) e cervídeos, (SZABÓ et al., 2003). Estes últimos talvez tenham sido hospedeiros primitivos dessa espécie de carrapato, adaptada, posteriormente, aos ruminantes domésticos (BECHARA et al., 2000; CAMPOS PEREIRA et al., 2000)

O carrapato bovino possui grande importância para a pecuária brasileira e de outros países do mundo. Parasita, aproximadamente, 75% da população bovina mundial, produzindo perdas diretas pela ação tóxica da picada e a espoliação do organismo do bovino pela alimentação, sugando linfa e sangue (CORDOVÉS, 1997; SUGUISAWA e SOUTELLO, 2004); e indiretas, pois além do custo para combatê-lo, esse ixodídeo atua como vetor de organismos patógenos aos hospedeiros, destacando-se no Brasil dois gêneros: *Anaplasma* e *Babesia* responsáveis pelo complexo conhecido como "tristeza parasitária bovina" que causa importantes prejuízos ao sistema de produção (VIDOTTO et al., 2008; TERUEL et al., 2009).

Grisi et al. (2002) relataram que as perdas econômicas causadas por esse ectoparasita são em torno de dois bilhões de dólares ao ano. Valores que resultam da diminuição de ganho de peso, de gastos com ectoparasiticidas, da diminuição da produção de leite, da depreciação do couro e de lesões contaminadas.

1.1.2 Ciclo de vida do carrapato bovino

O ciclo de vida do carrapato *R. (B.) microplus* divide-se em fase de vida livre e fase de vida parasitária, sendo que um parasita utiliza um único hospedeiro no seu ciclo evolutivo (VIVAN, 2005).

O ciclo evolutivo inicia com a cópula. O macho é pequeno e se coloca sob a fêmea que está fixada no couro do bovino. Este utiliza o hipóstomo (rostro) e introduz um espermátóforo no orifício genital. A fêmea adulta é fecundada e, na fase final de ingurgitamento, desprende-se do bovino e cai no pasto, iniciando a postura no terceiro dia, com duração de aproximadamente 12 dias (GONZALES, 1975). Durante a oviposição, uma estrutura glandular conhecida como órgão de Gené, localizado dorsalmente na região anterior do idiossoma das fêmeas, reveste os ovos com cera impermeabilizante, de natureza lipídica, fundamental para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico, e substâncias de propriedades antioxidantes e antibióticas (ARRIETA et al., 2006).

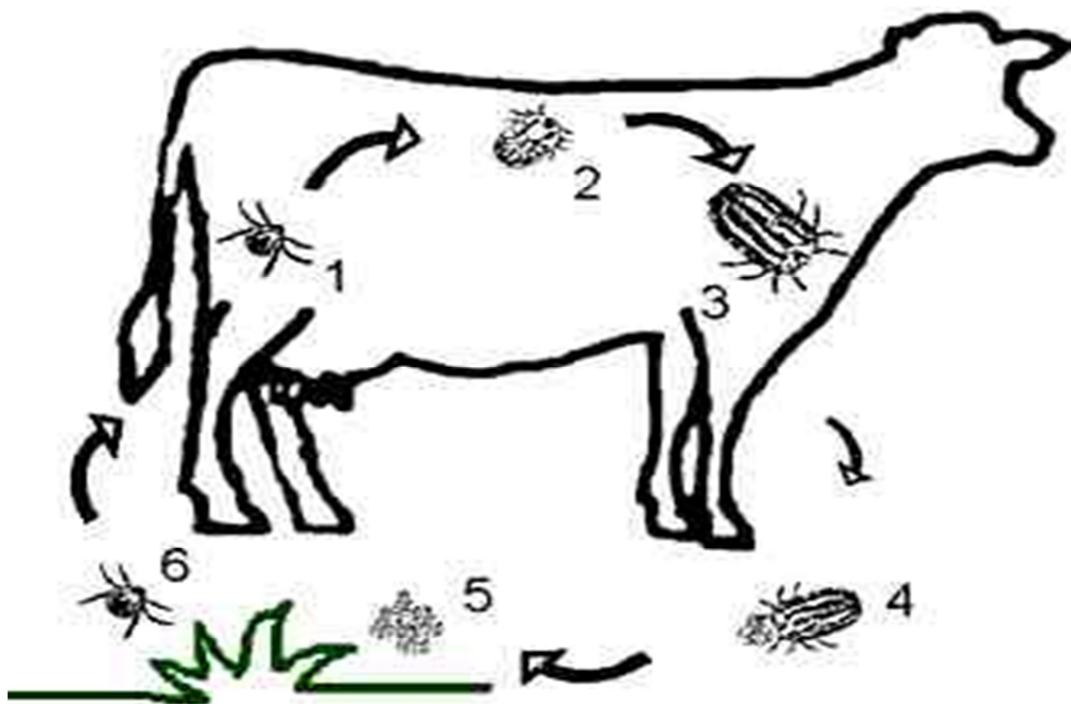


Figura 2 - Ciclo de vida simplificado do *R. (B.) microplus* 1- larva infestante realizando a fixação no bovino; 2- ninfa; 3- teleóquina em estágio final de ingurgitamento (**Fase parasitária**); 4- teleóquina logo após desprendimento, em período de postura no solo; 5- ovos, no solo, em período de incubação; 6- larva, no solo, em período de incubação (**Fase de vida livre**) (ANDREOTTI, 2002).

Em condições adversas, como baixa temperatura, a teleógina, embora não faça a postura, não morre, aguardando condições favoráveis para reiniciar o processo. Dessa forma, o período de postura pode prolongar-se por vários dias, até meses, dependendo das condições climáticas (GONZALES, 2003).

A fase parasitária tem início com a fixação das larvas no hospedeiro suscetível e termina quando os adultos incluindo as fêmeas fecundadas e ingurgitadas caem do hospedeiro. A fase não parasitária, em síntese, começa com a teleógina (fêmea ingurgitada), depois que se desprende do hospedeiro, caindo no solo, para realizar a oviposição. Essa fase termina em uma de quatro alternativas: 1) as larvas oriundas dessas fêmeas acessam ao hospedeiro suscetível; 2) a fêmea morre, sem realizar oviposição; 3) produz ovos inférteis; 4) ou as larvas morrem sem alcançar o hospedeiro. Assim, o início e o término do ciclo acontecem quase sempre no pasto, onde geralmente interagem o parasito, o hospedeiro e o ambiente (PEREIRA, 1982).

Os carrapatos possuem um dos maiores potenciais bióticos entre os componentes do filo arthropoda (OLIVER, 1989), podendo cada fêmea de *R. (B.) microplus*, dependendo do tamanho do seu corpo ingurgitado, dar origem a mais de 3.000 ovos. Entretanto as condições ambientais e o grau de resistência do hospedeiro influenciam no tempo de duração do ciclo de vida do carrapato e no peso das teleóginas (HEWETSON, 1972; CARDOSO, 2000; FRAGA et al., 2003).

1.1.3 Resistência de *R. (B.) microplus* a acaricidas sintéticos

A resistência aos carrapaticidas comerciais surgiu como um problema em vários países, especialmente, com relação aos carrapatos *R. (B.) microplus* (MARTINS, 2004). Apesar das inúmeras pesquisas relacionadas à biologia, ecologia e epidemiologia do carrapato, e ao diversificado arsenal da indústria químico-farmacêutica, ainda é muito difícil manter esse parasitismo compatível com a produção (BORDIN, 1998).

O desenvolvimento das drogas químicas foi um progresso considerável para o controle dos parasitos, contribuindo para o aumento da produção e da produtividade animal em todas as regiões do mundo. Entretanto, gradativamente, os parasitos foram desenvolvendo mecanismos de defesa e criando sistemas para contornar a ação dos químicos. Resistência aos carrapaticidas arsenicais, organoclorados, organofosforados, piretróides sintéticos, amidinas e mais recentemente em relação às lactonas macrocíclicas tem sido relatado (MARTINS et al., 2003).

Os principais mecanismos utilizados pelos carrapatos resistentes para sobreviver aos acaricidas são: a redução da taxa de penetração do produto alterando o tegumento externo; as mudanças no metabolismo; e mudanças no local de ação do produto (FURLONG, 2000).

As principais características da resistência apresentadas pelos carrapatos são genéticas e de caráter irreversível, ou seja, filhos de pais resistentes também serão resistentes, e se houver estabelecimento da resistência a um produto, a suspensão do uso do mesmo por um determinado período de tempo não o habilitará a um novo uso eficaz (GONZALES, 2003).

Em termos gerais, o uso de carrapaticidas é orientado basicamente pela pressão do mercado, havendo um grande vácuo em informação técnica com relação ao melhor uso dos mesmos e a informação sobre a bioecologia dos carrapatos (MARTINS, 2004).

1.1.4 Controle de *R. (B.) microplus*

Para o controle de *R. (B.) microplus* são utilizadas medidas curativas quando necessário e o bem sucedido controle estratégico, que é feito com base no conhecimento do ciclo de vida do parasita e no seu grau de infestação em relação aos períodos de maior e de menor precipitação, visando a evitar altas infestações nos animais e, com isso, diminuir os prejuízos (BRAGA, 2002).

Para efetuar um bom controle do carrapato é preciso conhecer a sua taxonomia e a sua biologia. A busca do conhecimento para os processos relacionados à produção agropecuária é fundamental para evitar os desequilíbrios que ocorrem nos sistemas de produção, como vêm ocorrendo com as endo e ectoparasitoses (CORDOVÉS, 1997).

Segundo Hoffman (2002), na bovinocultura os principais parasitas podem ser em grande parte controlados a partir do conhecimento de sua biologia e do ecossistema do qual fazem parte. Os carrapatos, na fase de vida livre no ambiente, podem ser atacados não por produtos químicos, mas por seus inimigos naturais, principalmente, pássaros insetívoros, pelos fatores ambientais adversos e pela ausência do hospedeiro.

Na região norte, existem poucas alternativas de tratamento estratégico em função das condições climáticas adequadas ao desenvolvimento e a sobrevivência do carrapato durante o ano todo. Apenas nos meses de agosto a outubro existe uma tendência à diminuição dos carrapatos na pastagem, possibilitando uma pequena chance de controle estratégico (FURLONG, 2005).

A maior parte da população dos carrapatos (95%) está na pastagem e apenas 5% dos mesmos estão nos animais (FURLONG, 2000). Apesar disso, sabe-se que a maior parte dos tratamentos é realizada somente a partir do momento que as formas parasitárias são evidenciadas. Os Produtores geralmente combatem o parasita na propriedade apenas aplicando produtos carrapaticidas sobre os animais, e esta única tarefa é realizada sem a menor atenção e capricho (FURLONG, 2005; MENDES et al., 2008).

O uso de acaricidas vem sendo a medida de controle profilático e terapêutico mais comum contra o carrapato bovino (BULLMAN et al., 1996). Entretanto nos últimos anos, o controle do carrapato, realizado principalmente com acaricidas sintéticos, vem se tornando cada vez mais difícil, devido o desenvolvimento da resistência desses ectoparasitas a diversas gerações de acaricidas (VIEIRA et al., 2003).

Um controle eficiente do carrapato em uma propriedade depende de vários fatores relacionados com o rebanho (tamanho, raças, cruzamentos), com as pastagens (variedades e lotação), parasitos (número de gerações, eficácia dos parasiticidas), sistema de produção, clima, época do ano e outros fatores (ALMEIDA, 2005).

As pastagens estão diretamente relacionadas às populações de carrapatos. Elas têm um papel muito importante na proteção da fêmea ingurgitada durante a oviposição, garantindo uma evolução dos ovos total e rápida. Elas atuam amenizando as temperaturas altas ou baixas e também conservando uma elevada umidade relativa. Esta situação ocorre nos campos com pastagens muito altas e naqueles com vegetações arbustivas e matas (GONZALES, 1975). Assim, o mau manejo das pastagens constitui-se uma fonte de desequilíbrio da população de carrapatos, por isso se recomenda a rotação de pastagens, pois, por meio deste processo, existe uma interrupção no ciclo do parasito (CASTREJÓN et al., 2003).

Outros métodos de controle do carrapato bovino têm sido pesquisados, como o controle biológico (GONZALES, 2003) utilizando patógenos, como o fungo *Metarhizium anisopliae* (GARCIA, 2008; LEEMON e JONSSON, 2008; GARCIA et al., 2011) e bactérias, como a *Cedecea lapagei* (BRUM, 1988).

Kaaya e Hassan (2000) registraram a importância dos fungos entomopatogênicos como biopesticidas promissores para o controle biológico de carrapatos. No entanto, os fungos são os patógenos mais frequentemente encontrados em população de ácaros. Por isso o controle biológico por fungos entomopatogênicos tem-se apresentado como uma alternativa para o problema da utilização dos acaricidas (BITTENCOURT et al., 1995; FRAZZON et al., 2000).

O desenvolvimento e emprego de vacinas específicas têm sido também pesquisados para controlar *R. (B.) microplus* (WILLADSEN, 1997), sendo seu principal efeito a redução da capacidade reprodutiva do parasito, promovendo um controle progressivo do número de carrapatos (ALMEIDA, 2005). Atualmente, o controle por meio de vacina utiliza uma proteína de superfície de células do endotélio do tubo digestivo de *R. (B.) microplus*, a Bm86 (WILLADSEN et al., 1989; ANDREOTTI, 2004).

O desenvolvimento de uma vacina polivalente, usando diferentes antígenos com efeito em diferentes fases de vida e impedindo o funcionamento de pontos importantes na vida do carrapato, vai permitir aumentar a eficiência no controle e dificultar a pressão de

seleção nas populações de carrapato, porém o procedimento é caro e complexo (PATARROYO et al., 2002; SALCEDO, 2005), e apesar da eficácia demonstrada, essas vacinas tiveram, na prática, um impacto relativamente reduzido sobre o controle de *R. (B.) microplus*, principalmente, devido a complicadas razões comerciais e científicas (WILLADSEN, 2006). Entre os problemas observados, merece destaque a baixa suscetibilidade de determinadas populações de carrapato às vacinas comerciais (GARCIA, 1999).

O cruzamento com raças bovinas resistentes ou menos suscetíveis é outra forma eficiente e econômica de controle do carrapato. Os zebuínos são naturalmente resistentes ao *R. (B.) microplus* (VERÍSSIMO, 2004).

Produtos obtidos da extração de princípio ativo encontrado em plantas (repelentes e parasiticidas naturais) deverá ser uma linha de pesquisa importante e promissora (BRAGA, 2002).

1.2 Plantas e acaricidas sintéticos que apresentam atividade sobre *R. (B.) microplus*

No Brasil, trabalhos utilizando óleos emulsionáveis de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) e pimenta de macaco (*Piper aduncum*) (SILVA et al., 2009), rotenóides extraídos dos timbós (*Derris urucu*) (VERÍSSIMO, 2004), (*Dahlstedtia pentaphylla*) (PEREIRA e FAMADAS, 2004) e azadiractina presente em plantas da família Meliaceae (*Melia azedarach*) (BORGES, 2003) mostram-se promissores no controle de *R. (B.) microplus*.

O Brasil, na primeira metade do século XX, foi um grande produtor e exportador de inseticidas vegetais, como a rotenona (extraída das raízes e rizomas de *Lonchocarpus* sp. e *Derris* sp.), piretro (extraído de flores de *Chrysanthemum cinerariifolium*) e nicotina (extraída de folhas de *Nicotiana tabacum*). Entretanto, seguindo a tendência mundial, após os anos 50, passou a utilizar, principalmente, os produtos sintéticos, cujos efeitos danosos foram posteriormente conhecidos (MARTINEZ, 2002).

De 1950 a 1970, após a segunda guerra mundial, houve uma explosão na síntese e consumo de produtos sintéticos como DDT, BHC, Aldrin, Dieldrin e Clordano, que foram usados, indiscriminadamente, nesse período. A resistência não tardou a aparecer e esse foi um dos motivos que impulsionou a pesquisa de novos inseticidas (CARSON, 1962).

Existe a necessidade de maior orientação de técnicos e produtores sobre o uso de alternativas para o controle do carrapato e aplicações estratégicas de carrapaticidas, o que prolongaria sua vida útil, pois quanto maior a pressão para uso de acaricida sintético, mais rápida a seleção de populações resistentes (FARIAS et al., 2008).

Plantas usadas em processos de controle de *R. (B.) microplus*, como o uso do extrato de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) (HEIMERDINGER, 2005) e o fumo (*Nicotiana tabacum*) (OLIVO et al., 2009) demonstram a possibilidade do uso de fitoterápicos. Portanto há necessidade de maior número de estudos para utilização de tais produtos de maneira eficiente e econômica.

1.3 O gênero *Lonchocarpus* e outros timbós

Apesar do Brasil possuir, aproximadamente, 55.000 espécies de plantas e ser considerado o país com o maior número de espécies no mundo, estudos sobre possíveis efeitos terapêuticos dessas plantas são muito reduzidos (DI STASI, 1996). Atualmente, com processos mais apurados de pesquisa, de separação e quantificação de princípios ativos, pode-se encontrar e medir com sucesso substâncias presentes em plantas (TAYLOR et al., 2001).

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, a biodiversidade pode ser usada para ajudar a grande massa de produtores no setor primário, carentes de recursos, a reduzir sua dependência de insumos químicos de difícil acesso e elevado custo (ALTIERI et al., 2003).

O gênero *Lonchocarpus* Kunth pertence à subfamília Papilionoideae dentro da família Leguminosae. É considerado um táxon bastante complexo com cerca de 150 espécies registradas. No Brasil, sua ocorrência está restrita a 24 espécies (MAGALHÃES et al., 1996, 2007).

Este gênero apresenta distribuição predominantemente neotropical, sendo um importante componente das formações florestais da América Central e do Sul. Apenas duas espécies, *L. sericeuse* e *L. capassa*, são encontradas na África do Sul (AGANGA e MOSASE, 2001; TOZZI e SILVA, 2007).

Caminha Filho (1940) cita as variedades de timbó mais conhecidas no norte brasileiro, dentre elas: *Lonchocarpus nicou* Benth (timbó macaquinho), *Lonchocarpus urucu* Killip (timbó vermelho), *Lonchocarpus floribundus* Benth (timbó venenoso), *Derris guianenses* Benth (timbó da mata), *Derris negrensis* Benth (timborana de Gurupá), *Tephrosia brevipes* Benth (timbó do campo), *Tephrosia nitens* Benth (timbó ajaré) e outros.

Outra espécie de timbó usada como planta inseticida e de taxonomia próxima à *Lonchocarpus* é a *Derris elliptica*, estudada primeiramente por Kazuo Nagai, em 1902, foi levada da Ásia Tropical para o Japão. Nagai observou que o princípio ativo dessa planta era um produto cristalino, ao qual foi dado o nome de rotenona (CORBETT, 1940). Posteriormente, essa espécie conhecida como tubá, toeba ou timbó asiático foi introduzida

em Parintins-AM por imigrantes japoneses, possivelmente, para uso como inseticida e adubo verde (LIMA e COSTA, 1991).



Figura 3 – *L. Floribundus*. Foto: Machado, A.F. (2010)

A atividade inseticida de extratos aquoso e alcoólico de várias partes de plantas de treze espécies vegetais da Amazônia brasileira em adultos de vaquinha do feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus*) foi avaliada por Fazolin et al. (2002). O extrato alcoólico de *Derris* spp. (timbó), contendo rotenona, foi o que induziu a maior porcentagem de mortalidade de *C. Tingomarianus*, com valores variando de 15,1 a 26,8%.

Mariños et al. (2004) utilizando extrato de raiz de *Lonchocarpus utilis* sobre larvas de mosquito (*Anopheles benarroch*), observou que 3,1g/L controlou 80% da população desse inseto em 12 horas e 90% em 24 horas.

Em pesquisas realizadas para avaliar a toxicidade de extrato de *Derris amazônica* sobre adultos de *Cerotoma arcuatus*, verificou-se que esse extrato, contendo 3,7% de rotenona, induziu a mortalidade de insetos superior a 80% (ALÉCIO, 2007).

A rotenona é um composto inseticida presente em plantas leguminosas do gênero *Lonchocarpus*, *Derris*, e *Tephrosia* na América do Sul, as quais são popularmente conhecidas como timbó ou cube (CAMINHA FILHO, 1940; KATHRINA e ANTONIO, 2004;

WIESBROOK, 2004) e suas características inseticidas foram reconhecidas desde o século XIX (CAMINHA FILHO, 1940).

Estudos fitoquímicos realizados em várias espécies de *Lonchocarpus*, previamente investigadas, permitiram a caracterização de diversos metabólitos secundários, incluindo os estilbenos, triterpenos e derivados de ácido benzóico. Foi encontrada também uma grande diversidade estrutural de flavonóides, o qual é característica dominante neste gênero (IOSET et al., 2001; MAGALHÃES et al., 1996, 2007).

Nas raízes de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp., foram encontradas seis substâncias denominadas rotenóides: a rotenona, eliptona, sumatrol, malacol, 1-alfa-toxicarol e deglelim. As cinco últimas substâncias têm composição semelhante à rotenona, porém esta é de cinco a dez vezes mais tóxica para os insetos que os demais rotenóides (MARICONI, 1981).

Essas substâncias matam os insetos bloqueando a respiração celular. Ao contrário dos outros inseticidas, a rotenona não é uma neurotoxina e funciona como inibidor do complexo I da cadeia transportadora de elétrons, atuando entre o NAD⁺ (uma enzima envolvida nos processos metabólicos de oxi-redução) e a co-enzima Q (co-enzima responsável pelo transporte de elétrons na cadeia respiratória), ocasionando problemas nas funções respiratórias. Comercialmente, os extratos que contêm rotenona variam na composição de rotenóides, de acordo com a origem da planta (SANTOS, 2002).

Pinto (1953) *apud* Costa (1996) empregou a rotenona como carrapaticida com sucesso, como também recomendou o seu uso no tratamento de pediculoses e no combate a bernes e piolhos. Costa (1996) relatou que o suco leitoso da raiz de *Lonchorcarpus nicou* usado na lavagem de gados, nas montanhas andinas, foi eficiente para matar carrapatos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de *Lonchocarpus floribundus* sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2.2 Específicos

- Avaliar o efeito acaricida de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de *L. floribundus* em fêmeas ingurgitadas e larvas de *R. (B.) microplus*;
- Verificar a toxicidade de extratos de *L. floribundus* sobre a postura e eclosão dos ovos em fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*;
- Determinar a eficiência reprodutiva e controle de reprodução de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, submetidas aos extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de *L. floribundus*;
- Estimar a concentração letal mediana (CL₅₀) de extratos de *L. floribundus* para fêmeas ingurgitadas e larvas de *R. (B.) microplus* e concentração inibitória mediana (CI₅₀) para fêmeas ingurgitadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), no município de Eldorado do Sul - Estado do Rio Grande do Sul, no período de fevereiro a maio de 2011.

3.1 Seleção e coleta do material botânico

As raízes de *L. floribundus* foram coletadas no Campus da Universidade Federal do Amazonas (3°6'4.58"S; 59°58'46.10"O), no município de Manaus-AM, no mês de junho de 2010.

3.2 Identificação do material botânico

Uma parte do material botânico (raízes) foi colocada em uma prensa (exsicata) e enviada ao herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), no qual foi identificada por comparação com a exsicata de número 223876. As raízes foram colocadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados (data, nome do coletor e local da coleta) e transportadas para o laboratório de Bioprospecção de produtos naturais, para processamento. 223876

3.3 Secagem e processamento do material botânico

As raízes de *L. floribundus* foram lavadas com água destilada cortadas em pequenos cubos e distribuídas em folhas de jornal para secagem em casa de vegetação, à temperatura de 37 ± 5 °C, durante sete dias. Posteriormente, foram trituradas em um moinho do tipo martelo para reduzir o volume. Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel de três litros e colocadas em estufa, a temperatura de 37° C, durante cinco dias. Após este período, foram novamente trituradas em um moinho do tipo faca, para obtenção do pó das raízes, segundo metodologia descrita por Prista et al. (1981), com algumas modificações (Figura 4).



Figura 4 - Raízes de timbó, distribuídas em folha de jornal, para secagem em casa de vegetação. Foto: Corrêa (2005)

3.4 Obtenção dos extratos

Os extratos foram elaborados pelo método de maceração durante 48 horas. Foram utilizados 400g de raízes trituradas e 2 litros de cada solvente (acetato de etila, etanol 95% e água destilada), que foram colocadas em frasco Mariotte de 4,0 litros. Após a extração, os extratos foram filtrados em papel de filtro e colocados em um frasco erlenmeyer de 2 litros.



Figura 5 - Raízes trituradas de *L. Floribundus* sob maceração durante 48 h. Foto: Machado, A.F. (2010).

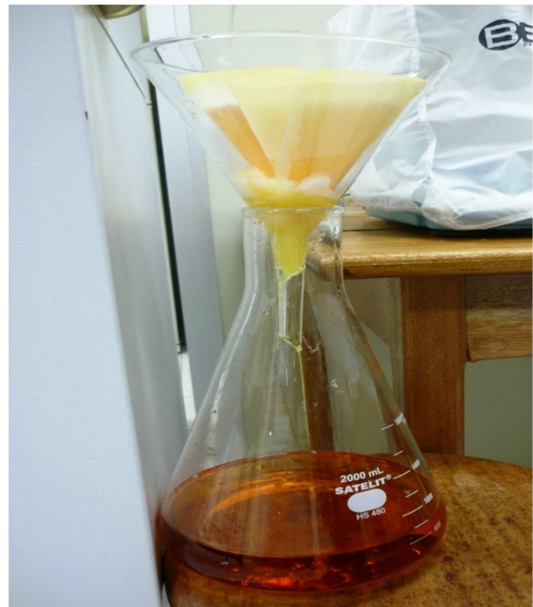


Figura 6 - Filtragem de extrato de *L. floribundus*. Foto: Machado, A.F. (2010).

3.4.1 Extrato aquoso

Foram usados cinco recipientes de vidro, variando de 7 a 10 cm de diâmetro e 10 a 15 cm de altura, nos quais o extrato filtrado foi distribuído. Os recipientes foram colocados em aparelho liofilizador, à temperatura de -46°C , no qual permaneceram por cinco dias, para obtenção do extrato bruto.



Figura 7 - Liofilizador em processo de desidratação do filtrado, para obtenção do extrato aquoso bruto. Foto: Machado, A.F. (2010).

3.4.2 Extrato acetato de etila e etanólico

Os extratos filtrados acetato de etila e etanólico de raízes de *L. floribundus* foram colocados em evaporador rotativo a 40°C , para eliminação dos solventes e obtenção dos extratos brutos. Posteriormente, foram condicionadas em capela de fluxo para eliminação total dos solventes.

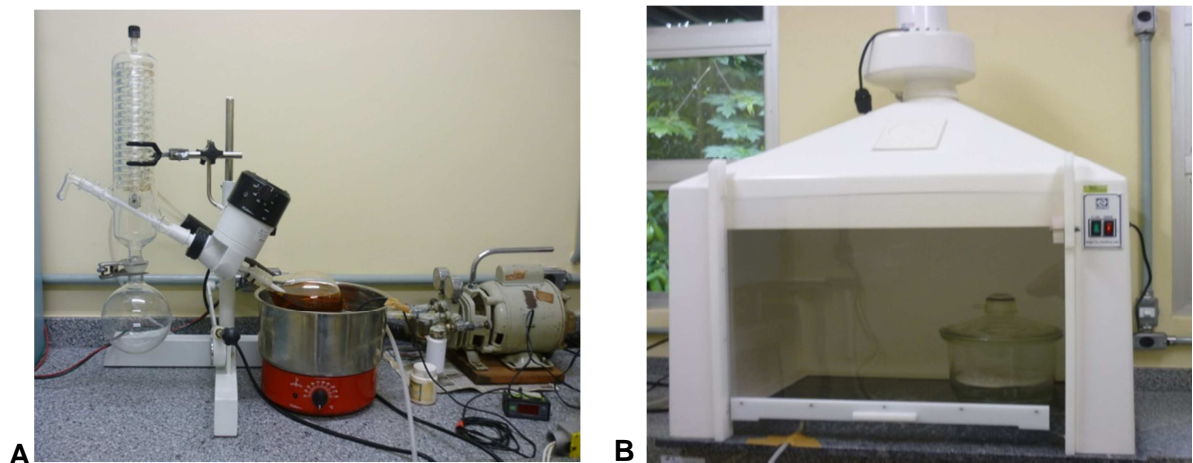


Figura 8 - Evaporador rotativo (A) e capela de fluxo laminar (B). Foto: Machado, A.F. (2010).

3.5 Coleta dos carrapatos

As fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* foram coletadas em bovinos no IPVDF. As larvas foram obtidas por meio da postura de ovos das teleóginas do terceiro ao décimo dia.

3.6 Origem dos bovinos

Os bovinos utilizados têm como origem uma propriedade no município de Santa Vitória do Palmar, RS – Latitude 33° 31' S e Longitude 53° 22' O, 23 m altitude, temperatura média anual de 16,5 °C, região naturalmente livre da presença do carrapato *R. (B.) microplus*. Os bovinos foram transportados para a unidade de isolamento do IPVDF, no qual ficaram estabulados. Foram utilizados quatro bovinos machos pertencentes à raça holandesa (Holstein) com idade entre 14 e 16 meses.

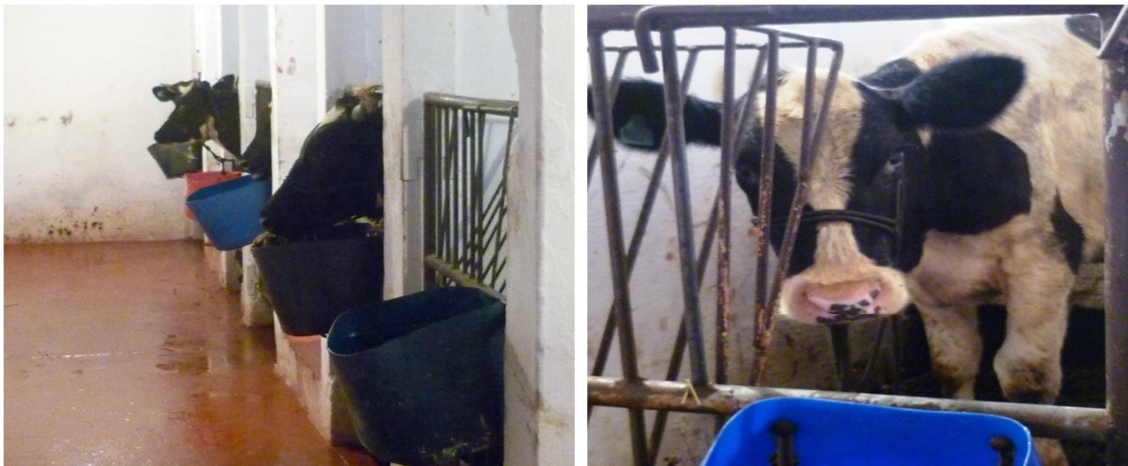


Figura 9 - Bovinos oriundos do município de Santa vitória do Palmar - RS em isolamento. Foto: Machado, A.F. (2011).

3.7 Infestação dos bovinos

Para as infestações foram utilizados aproximadamente 2500 larvas (oriundas da eclosão de 125mg de ovos) de *R. (B.) microplus*, pertencentes à cepa “São Gabriel”, a qual apresenta características de resistência a organofosforados, piretróides e amidínicos e é mantida em colônia no Laboratório de Parasitologia do IPVDF. As infestações foram realizadas na região do dorso e inserção da calda dos bovinos com o auxílio de uma seringa, previamente cortada na região da agulha e lacrada com tecido de trama fina, contendo as larvas. Vinte e um dias após a infestação, as fêmeas ingurgitadas foram coletadas.

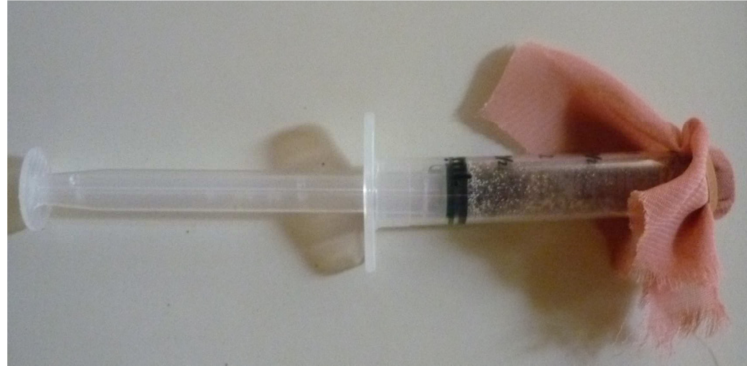


Figura 10 - Seringa contendo aproximadamente 2500 larvas. Foto: Machado, A.F. (2011).

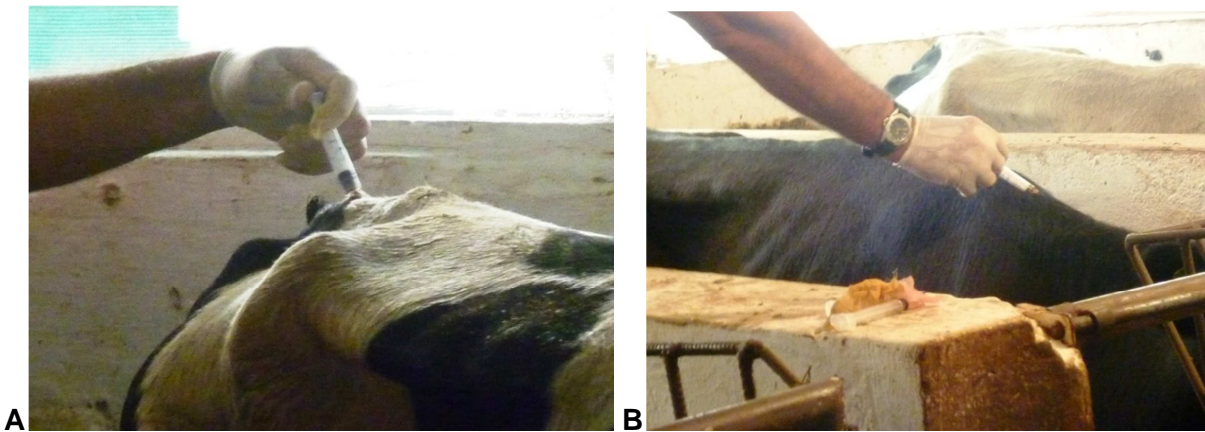


Figura 11 - infestação de bovinos com larvas de *R. (B.) microplus* na região da inserção da calda (A) e no dorso (B). Foto: Machado, A.F. (2011).

3.8 Avaliação acaricida de *L. floribundus*

3.8.1 Avaliação acaricida sobre fêmeas ingurgitadas

Para avaliar a eficiência de *L. floribundus* como acaricida, foram utilizados os extratos acetato de etila, etanólico e aquoso, nas concentrações de 5, 25, 50, 75 e 100 mg.ml⁻¹. Os extratos acetato de etila e etanólico foram solubilizados em álcool 100% e, posteriormente, diluídos para álcool 50%.

Foram utilizadas 300 fêmeas ingurgitadas coletadas e separadas em grupos de 10 (dez), pesadas de modo a manter um padrão por grupo. Cada grupo foi imerso, separadamente, nos extratos, nas concentrações estabelecidas, durante cinco minutos, conforme metodologia descrita por Drummond et al. (1973).

Após o tratamento, cada grupo foi colocado em placa de Petri e levado à estufa incubadora tipo B.O.D., temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa de $80 \pm 5\%$.

As taxas de mortalidade foram avaliadas, diariamente, durante seis dias. As taxas de oviposição foram avaliadas no décimo quinto dia após o tratamento. A eficiência reprodutiva (ER) e controle de reprodução (CR) foram avaliados no décimo quinto dia após a pesagem dos ovos, conforme metodologia de Stendel (1980).

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

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

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

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

PIF = Peso inicial da fêmea

PO = Peso de ovos

%E = Percentual de eclosão dos ovos

ER = Eficiência reprodutiva

%CR = Percentual de controle de reprodução

IO = Índice de oviposição

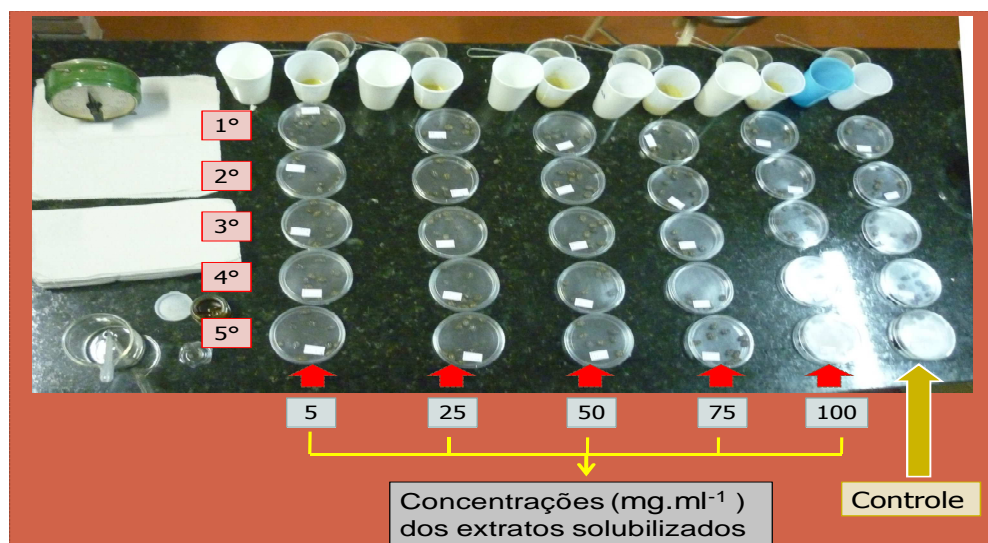


Figura 12 – Delineamento experimental para bioensaios utilizando fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*. Foto: Machado, A.F. (2011).

3.8.2 Avaliação acaricida sobre larvas

Para avaliar a eficiência de *L. floribundus* como larvicida, foi utilizado o teste de imersão de larvas, segundo metodologia descrita por Shaw (1966). Foram utilizados extratos acetato de etila, etanólico e aquoso, nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mg.ml⁻¹. Os extratos acetato de etila e etanólico foram solubilizados em álcool 100% e, posteriormente, diluídos para álcool 50%.

Foram utilizadas aproximadamente 100 larvas, com 14 a 21 dias de idade. Foram utilizados microtubos tipo eppendorf, nos quais foram colocados os extratos, nas concentrações estabelecidas, nos quais as larvas foram imersas durante cinco minutos. Em seguida, foi retirada a umidade excessiva das larvas em papel toalha e as mesmas foram envelopadas em papel filtro e incubadas. Foram utilizados dois grupos controle. Um grupo, para controle dos tratamentos com extrato aquoso, o qual foi imerso em solução Triton X a 0,02% e água destilada; outro grupo, para controle dos tratamentos com extratos acetato de etila e etanólico, o qual foi imerso em álcool 50% mais Triton X a 0,02%. Os pacotes foram mantidos em estufa incubadora tipo B.O.D. a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5 %. O registro de larvas vivas e mortas foi realizado em 24 horas e o percentual de mortalidade calculado, conforme metodologia descrita pela FAO Plant Protection Bulletin (1971).

$$\text{Mortalidade (\%)} = \frac{\text{larvas mortas}}{\text{total de larvas}} \times 100$$



Figura 13 – Larvas de *R. (B.) microplus*. Foto: Machado, A.F. (2011).

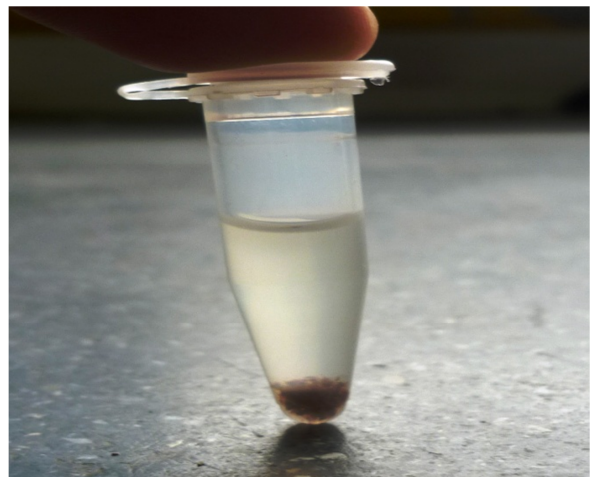


Figura 14 – larvas de *R. (B.) microplus* imersas nos extratos em tubo de eppendorf. Foto: Machado, A.F. (2011).



Figura 15 – **A.** Envelope contendo as larvas tratadas; **B.** condicionamento em estufa incubadora tipo B.O.D. a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5 %; **C.** Contagem das larvas vivas e mortas. Fotos: Machado, A.F. (2011).

3.9 Análise dos dados

O delineamento para avaliação dos parâmetros nos bioensaios, tanto para larvas como para as teleóginas, foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, cinco repetições, mais o grupo controle.

Os dados obtidos nos experimentos foram analisados por análise de variância, seguidos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com o auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows 17.0) (GREEN e SALKIND, 2004).

Os gráficos foram elaborados utilizando-se o software Prism Graph Pad. O método de Probit (FINNEY, 1971) foi usado para obtenção dos valores da CL_{50} , CI_{50} e seus respectivos intervalos de confiança 95% (IC-95%).

Nos casos de mortalidade natural ocorrida no controle, antes do cálculo da CL_{50} e CI_{50} , os valores da mortalidade, nos tratamentos, foram corrigidos segundo a fórmula de Abbott (1925), a seguir:

$$Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100, \text{ onde:}$$

Mc = Mortalidade corrigida
 Mo = Mortalidade observada
 Mt = Mortalidade na testemunha

4 RESULTADOS

4.1 Atividade acaricida do extrato acetato de etila de *L. floribundus* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

O extrato acetato de etila de *L. floribundus* induziu 32% de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* na maior concentração utilizada (100 mg.ml^{-1}). Entretanto não apresentou diferença estatística em relação às concentrações de 50 e 75 mg.ml^{-1} (Figura 16).

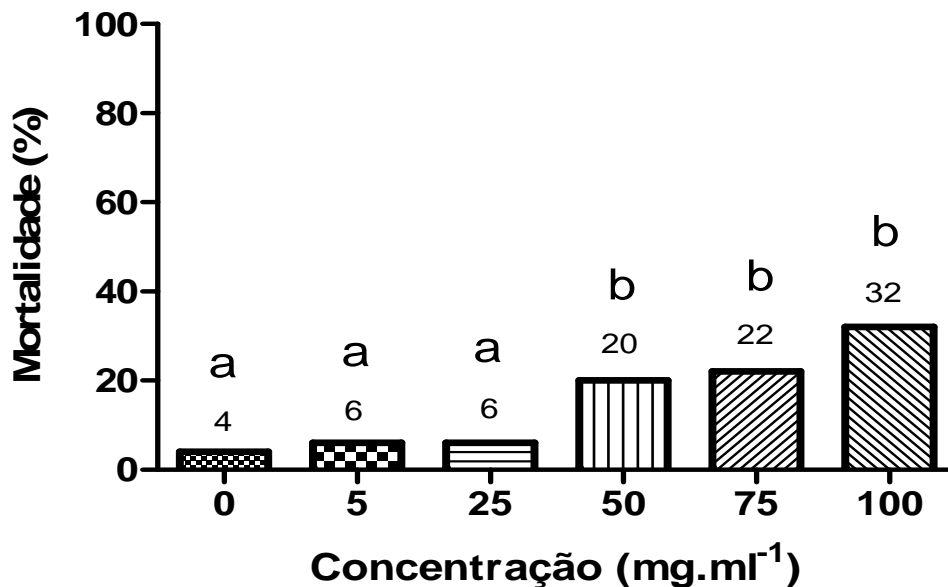


Figura 16 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato acetato de etila de raízes de *L. floribundus*.

Os valores percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, submetidas a concentrações de extrato acetato de etila de raízes de *L. floribundus* encontram-se na Figura 17. Verificou-se que na maior concentração avaliada (100 mg.ml⁻¹) a inibição da oviposição foi de 99,83%, não apresentando, estatisticamente, diferença em relação às concentrações de 50 e 75 mg.ml⁻¹.

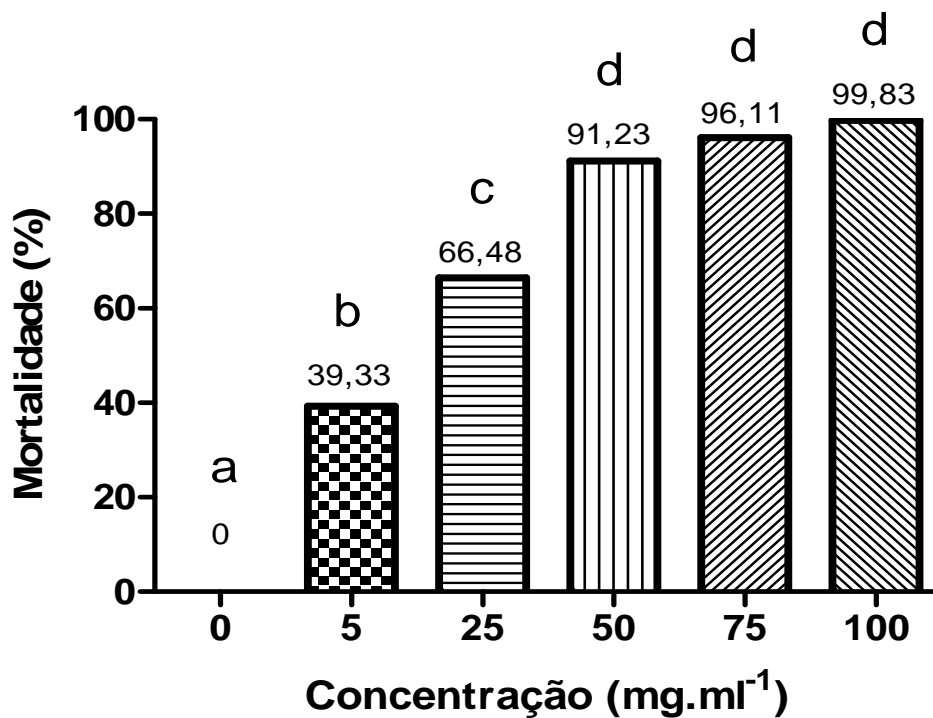


Figura 17 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato acetato de etila de raízes de *L. floribundus*.

Os valores médios de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus*, submetidas a diferentes concentrações de extrato acetato de etila de raízes de *L. floribundus*, no intervalo de tempo de 24 horas, variaram de 28,91% na menor concentração (5 mg.ml⁻¹) e 100% nas maiores concentrações (75 e 100 mg.ml⁻¹) (Figura 18).

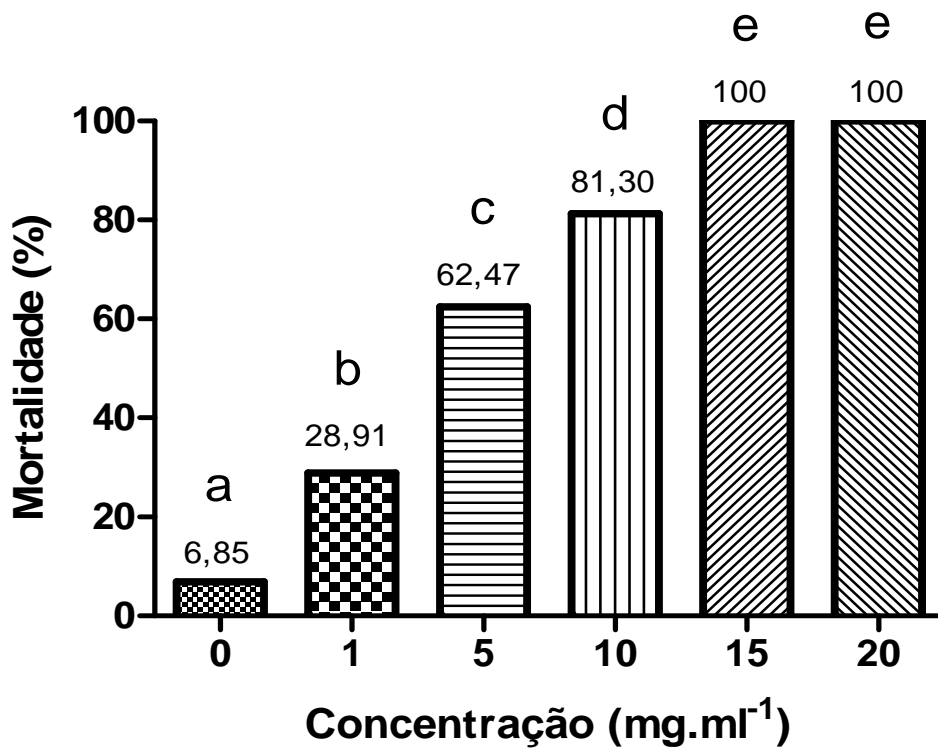


Figura 18 – Médias de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* submetidas a concentrações de extrato acetato de etila de raízes de *L. floribundus*.

4.2 Atividade acaricida do extrato etanólico de *L. floribundus* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

Nas concentrações avaliadas de extrato etanólico de raízes de *L. floribundus* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, verificou-se que a concentração de 100 mg.ml⁻¹ induziu a mortalidade de 46% de ácaros, porém não apresentou diferença estatística da concentração de 75 mg.ml⁻¹ que induziu 34% de mortalidade (Figura 19).

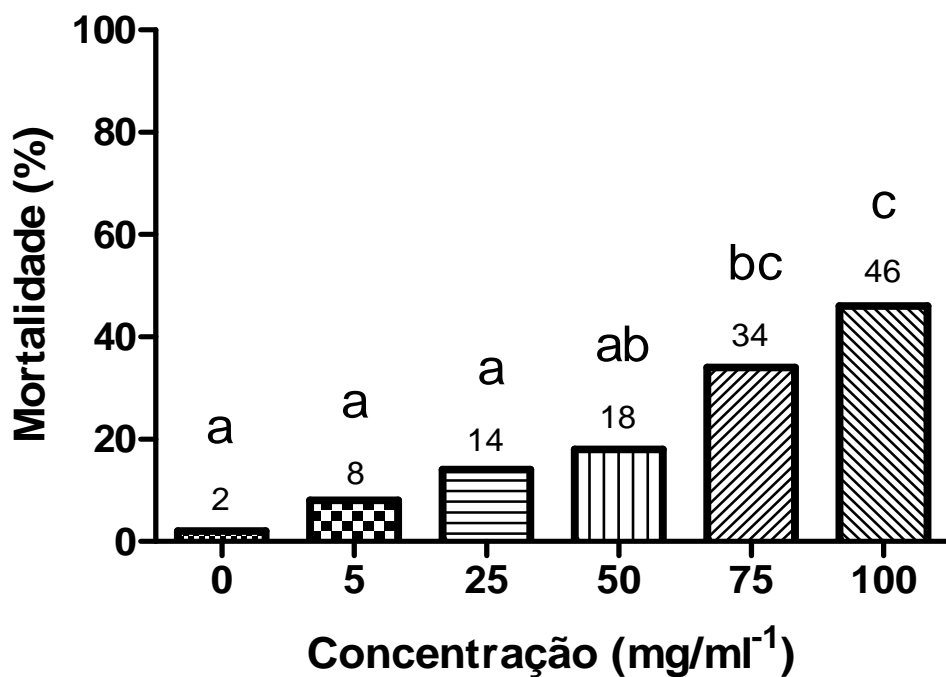


Figura 19 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato etanólico de raízes de *L. floribundus*.

Os valores percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R.(B.) microplus*, submetidas a diferentes concentrações de extrato etanólico de raízes de *L. floribundus*, estão representados na Figura 20. Verificou-se que nas concentrações avaliadas, a inibição de oviposição variou de 65,88 a 100%. As concentrações 50, 75 e 100 mg.ml⁻¹ apresentaram o mesmo percentual de inibição de oviposição.

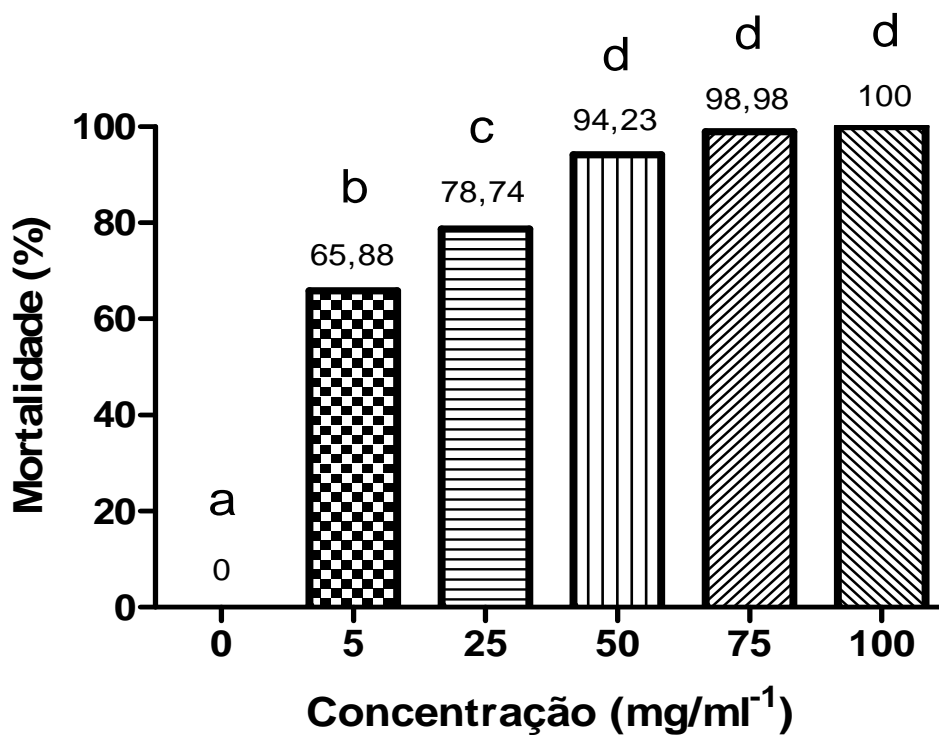


Figura 20 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato etanólico de raízes de *L. floribundus*.

O extrato etanólico de raízes de *L. floribundus*, nas concentrações avaliadas, causou mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus*, variando de 45,30 a 100%, no intervalo de tempo de 24 horas. As concentrações 10, 15 e 20 mg.ml⁻¹ apresentaram o mesmo percentual de mortalidade (Figura 21).

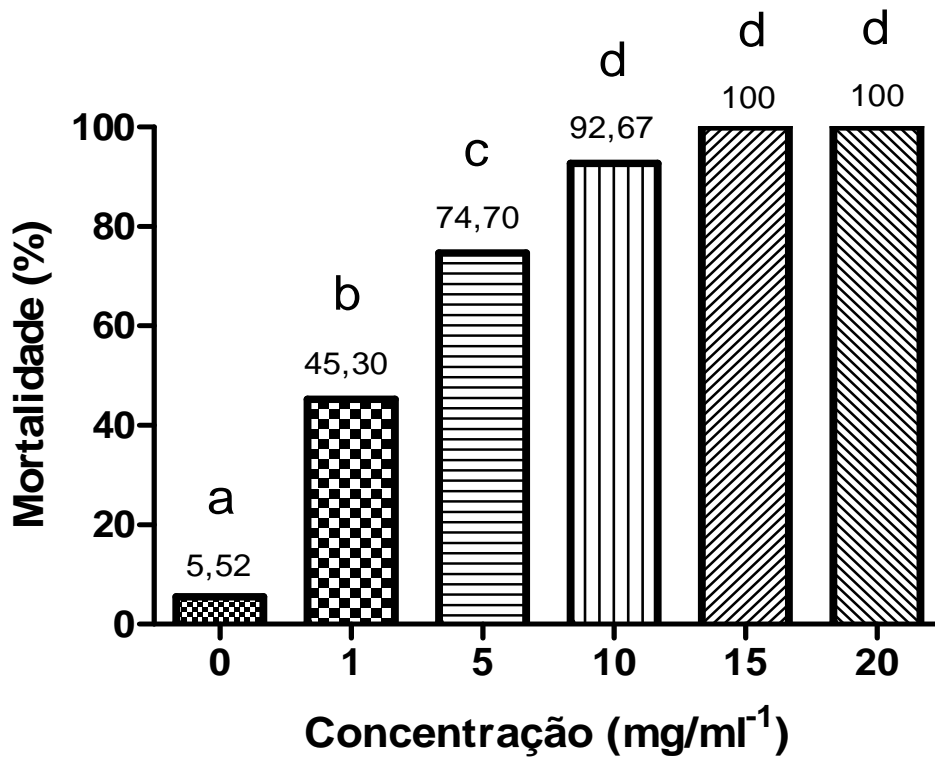


Figura 21 – Médias de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* submetidas a concentrações de extrato etanólico de raízes de *L. floribundus*.

4.3 Atividade acaricida do extrato aquoso de *L. floribundus* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

Nas concentrações avaliadas de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, verificou-se que a maior concentração (100mg.ml⁻¹) induziu a mortalidade de 24% dos ixodídeos, não apresentando diferença estatística em relação às concentrações de 5, 25, 50 e 75 mg.ml⁻¹ (Figura 22).

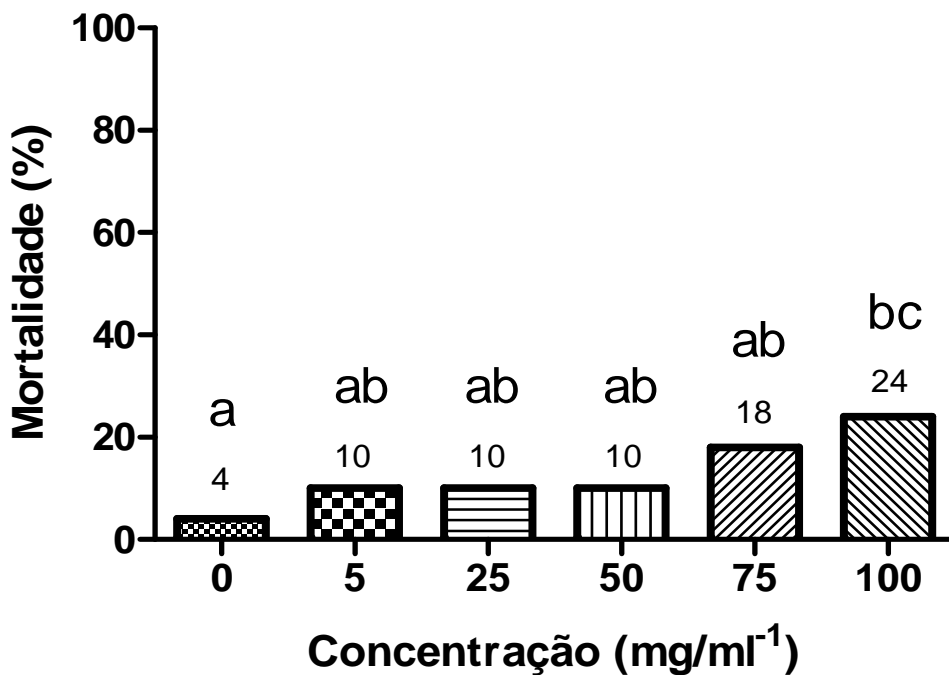


Figura 22 – Valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*.

O extrato aquoso de raízes de *L. floribundus* apresentou percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* variando de 25,84 a 64,18%. Entretanto as concentrações de 75 e 100 mg.ml⁻¹ apresentaram o mesmo efeito de inibição (Figura 23).

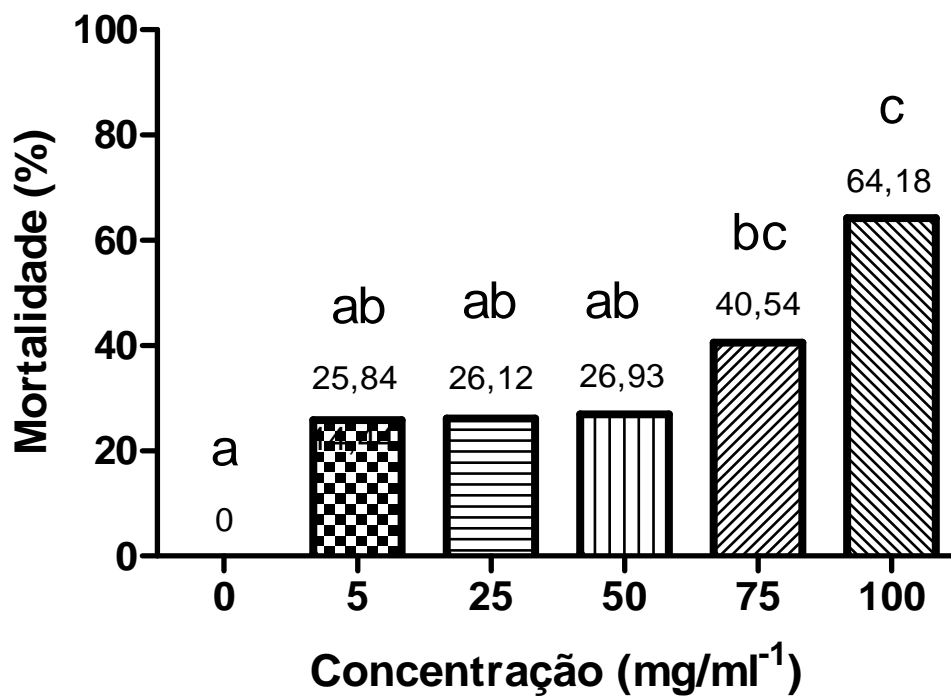


Figura 23 – Percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*.

A Figura 24 apresenta os valores percentuais de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus*, submetidas a concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*. Verificou-se que a mortalidade variou de 20,29 a 99,14%. As concentrações 10, 15 e 20 mg.ml⁻¹ apresentaram o mesmo potencial larvicida.

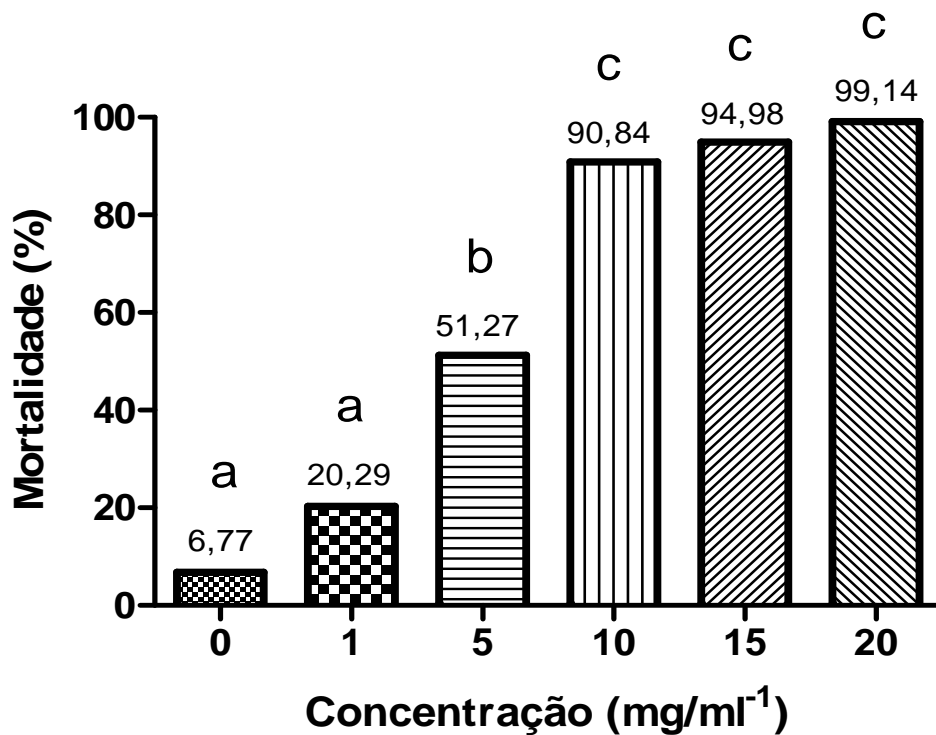


Figura 24 – Médias de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* submetidas a concentrações de extrato aquoso de raízes de *L. floribundus*.

4.4 Comparação dos percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas e larvas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extratos de *L. floribundus*.

Os valores percentuais de mortalidade de fêmeas ingurgitadas e larvas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus* encontram-se na Tabela 1 e 2 respectivamente.

Os extratos avaliados induziram percentual de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* abaixo de 50%. Entretanto apresentaram grande eficiência acaricida sobre as larvas, ocasionando taxas de mortalidade de 100% (Tabela 1 e 2).

Observou-se que o extrato acetato de etila de *L. floribundus* induziu baixo percentual de mortalidade de ácaros adultos, porém este extrato apresentou 100% de mortalidade para as larvas nas concentrações de 15 e 20 mg.ml⁻¹.

Verificou-se que o extrato etanólico induziu a mortalidade de 46% das fêmeas ingurgitadas, apresentando o mesmo percentual acaricida do extrato acetato de etila (tabela 1). O extrato etanólico foi mais eficiente para larvas do que para fêmeas ingurgitadas nas concentrações avaliadas, induzindo 100% de mortalidade de larvas nas maiores concentrações (15 e 20 mg.ml⁻¹) respectivamente (Tabela 2).

O extrato aquoso de *L. floribundus* induziu 24% de mortalidade de fêmeas ingurgitadas. Entretanto este extrato apresentou alto efeito larvicida, induzindo 99,14% de mortalidade de larvas (Tabelas 1 e 2).

O extrato acetato de etila de *L. floribundus* induziu maior mortalidade de ácaros adultos em relação ao extrato aquoso. Entretanto mostrou o mesmo efeito tóxico do extrato etanólico (Tabela 1).

Os três extratos avaliados, nas concentrações estabelecidas nos tratamentos, não foram suficientemente tóxicos para determinar a concentração letal mediana de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

Os três extratos vegetais, na maior concentração avaliada, apresentaram o mesmo potencial larvicida para larvas de *R. (B.) microplus* (Tabela 2).

A comparação de toxicidade para larvas de *R. (B.) microplus* entre os extratos de raízes de *L. floribundus*, utilizando os valores dos intervalos de confiança (IC-95%) de três concentrações letais medianas (CL₅₀), está demonstrada na Tabela 3. O extrato etanólico de raízes *L. floribundus* foi mais eficiente no controle de larvas de *R.(B.) microplus* estimando CL₅₀ de 2,13 mg.ml⁻¹. Os extratos acetato de etila e aquoso não apresentaram diferença estatística com relação aos valores da concentração letal mediana.

Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade (%M) de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato	Controle	(%M)				
		Concentração (mg.ml ⁻¹)				
		5	25	50	75	100
Acetato de etila	4	6	6	20	22	32 ab
Etanólico	2	8	14	18	34	46 b
Aquoso	4	10	10	10	18	24 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 2 - Porcentagem de mortalidade (%M) de larvas de *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato	Controle	(%M)				
		Concentração (mg.ml ⁻¹)				
		1	5	10	15	20
Acetato de etila	6,85	28,91	62,47	81,30	100,00	100,00 a
Etanólico	5,52	45,30	74,70	92,67	100,00	100,00 a
Aquoso	6,77	20,29	51,27	90,84	94,98	99,14 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 3 – Toxicidade de extratos vegetais para larvas de *R. (B.) microplus* (concentração letal mediana – CL₅₀).

Extrato	CL ₅₀ (mg.ml ⁻¹)	Intervalo de Confiança (IC-95%)		
		Inferior	Superior	
Acetato de etila	4,09	3,23	5,19	b
Etanólico	2,13	1,44	2,84	a
Aquoso	4,24	3,08	5,39	b

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

4.5 Comparação dos percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em relação às concentrações de extratos de *L. floribundus*.

A Tabela 4 apresenta os valores percentuais de inibição de oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* submetidas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*. Os extratos acetato de etila e etanólico foram os mais eficientes para inibir a oviposição dos ixodídeos. Na concentração de 100 mg.ml⁻¹, estes extratos inibiram 100% da oviposição. O extrato aquoso foi o menos eficiente inibindo 64,18% na maior concentração.

Tabela 4 - Percentual de inibição de oviposição (%IO) de fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato	(%IO)					
	Controle	Concentração (mg.ml ⁻¹)				
		5	25	50	75	100
Acetato de etila	0	39,33	66,48	91,23	96,11	100,00 a
Etanólico	0	65,88	78,74	94,23	98,98	100,00 a
Aquoso	0	14,44	26,12	26,93	40,54	64,18 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

A comparação de concentrações inibitórias medianas (CI₅₀) de oviposição para fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* entre os extratos de raízes *L. floribundus*, utilizando os valores dos intervalos de confiança (IC-95%), estão representados na Tabela 5. Observou-se que o extrato etanólico de *L. floribundus* foi mais eficiente para inibir a oviposição de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, estimando CI₅₀ = 3,03 mg.ml⁻¹.

Tabela 5 – Toxicidade de extratos vegetais para fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* (concentração inibitória mediana – CI₅₀)

Extrato	CI ₅₀ (mg.ml ⁻¹)	Intervalo de Confiança (IC-95%)		
		Inferior	Superior	
Acetato de etila	9,11	6,01	12,36	b
Etanólico	3,03	1,02	5,46	a
Aquoso	84,14	66,62	106,27	c

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

4.6 Eficiência reprodutiva e controle de reprodução de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* expostas a extratos de *L. floribundus*.

Os valores referentes à eficiência reprodutiva e controle de reprodução de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, submetidas a diferentes concentrações de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de raízes de *L. floribundus*, estão representados na Tabela 6.

Comparando-se a toxicidade dos três extratos em relação ao controle de reprodução de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, verificou-se que o extrato etanólico, na concentração de 50 mg.ml⁻¹, controlou 100% da reprodução. Entretanto esta concentração apresentou o mesmo potencial de controle da concentração de 5 mg.ml⁻¹ deste extrato e do acetato de etila e maior potencial em relação a 5, 25 e 50 mg.ml⁻¹ do extrato aquoso.

Tabela 6 - Percentual de eficiência reprodutiva (%ER) e percentual de controle de reprodução (%CR) de fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato (mg.ml ⁻¹)	PIF(g)	PO(g)	%ER	%CR
Acetato de etila				
5	3,47 ± 0,01	0,75 ± 0,12	4,62 ± 2,17 cd	86,22 ± 7,11 ab
25	3,46 ± 0,01	0,42 ± 0,12	1,64 ± 0,90 d	95,36 ± 2,53 a
50	3,47 ± 0,01	0,11 ± 0,06	0,16 ± 0,34 d	99,62 ± 0,84 a
75	3,47 ± 0,01	0,05 ± 0,04	0 ± 0,00 d	100 ± 0,00 a
100	3,47 ± 0,01	0 ± 0,00	0 ± 0,00 d	100 ± 0,00 a
Controle	3,47 ± 0,01	1,25 ± 0,14	34,66 ± 3,88 a	0 ± 0,00 e
Etanólico				
5	3,63 ± 0,13	0,47 ± 0,09	1,99 ± 1,37 cd	94,72 ± 3,59 a
25	3,63 ± 0,13	0,29 ± 0,05	0,22 ± 0,23 d	99,38 ± 0,65 a
50	3,63 ± 0,14	0,08 ± 0,05	0 ± 0,00 d	100 ± 0,00 a
75	3,63 ± 0,13	0,01 ± 0,01	0 ± 0,00 d	100 ± 0,00 a
100	3,63 ± 0,13	0 ± 0,00	0 ± 0,00 d	100 ± 0,00 a
Controle	3,63 ± 0,13	1,38 ± 0,08	37,64 ± 2,71 a	0 ± 0,00 e
Aquoso				
5	3,81 ± 0,01	1,25 ± 0,41	25,39 ± 12,00 a	33,41 ± 30,65 d
25	3,81 ± 0,01	1,08 ± 0,12	14,50 ± 5,61 b	61,69 ± 14,60 c
50	3,81 ± 0,01	1,06 ± 0,14	12,87 ± 8,28 b	65,06 ± 23,48 bc
75	3,81 ± 0,01	0,87 ± 0,12	8,67 ± 4,88 bc	77,49 ± 11,25 abc
100	3,81 ± 0,01	0,52 ± 0,15	1,50 ± 1,59 d	95,94 ± 4,47 a
Controle	3,81 ± 0,01	1,46 ± 0,07	37,89 ± 2,25 a	0 ± 0,00 e

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

PIF – Peso inicial de fêmeas
 PO – Peso de ovos
 ER – Eficiência reprodutiva
 CR – Controle de reprodução

5 DISCUSSÃO

Observando-se os resultados obtidos neste trabalho em relação à mortalidade de fêmeas ingurgitadas utilizando o extrato etanólico, verifica-se semelhança com os resultados obtidos por Pereira e Famadas (2004), que avaliaram a eficiência do extrato etanólico da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) para *R. (B.) microplus*, verificando-se mortalidade de 34% de ácaros adultos, assim como os resultados observados por Silva et al. (2009) que utilizaram o extrato etanólico de *Piper aduncum* induzindo 35,02% de mortalidade de fêmeas ingurgitadas.

Os resultados obtidos neste trabalho, utilizando extrato vegetal de *L. floribundus*, para induzir a mortalidade de ácaros adultos e larvas de *R. (B.) microplus*, corroboram os resultados encontrados por Catto et al. (2009), que utilizaram a rotenona na forma de extrato da raiz de *Lonchocarpus nicou*, demonstrando grande eficiência contra a infestação de larvas, porém alcançou um baixo grau de atividade antiparasitária contra o carrapato adulto de *R. (B.) microplus* nos testes *in vitro* e em animais experimentalmente infestados. Esses resultados sugerem que os ácaros adultos são mais resistentes aos extratos do que as larvas. A diferença de composição da cutícula entre larvas e fêmeas pode justificar os resultados obtidos, devido à formação da camada externa da cutícula dos carrapatos ser formada por ceras (BALASHOV, 1972) e que somente a partir do estágio ninfal o carrapato bovino apresenta essa camada de proteção (ODHIAMBO, 1982). Chagas et al. (2003) avaliando a eficácia de solventes para carrapato bovino verificaram que, a utilização de solventes, em conjunto com um composto apolar, causam maior destruição da camada de ceras nas fêmeas ingurgitadas, ocorrendo grande perda de água para o meio, ocasionando maior mortalidade. Em relação às larvas, não ocorre diferença na mortalidade, devido à presença ou ausência de um composto apolar em teste de imersão de larvas.

Os extratos acetato de etila e etanólico de *L. floribundus* induziram 100% de mortalidade de larvas e controlaram alto percentual de reprodução de ácaros adultos. Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira e Famadas (2004), os quais utilizaram extrato etanólico da raiz do timbó e observaram taxas de mortalidade de 93,92% de larvas e percentual de 79,73% no controle de reprodução desse ácaro. Sousa et al. (2008) utilizaram extrato hexânico de frutos maduros e verdes de cinamomo (*Melia*

azedarach) sobre o carrapato bovino. Os autores observaram 100% de mortalidade para as larvas com ambos extratos e controle de reprodução variando 5,2 a 99,7% para o extrato de frutos maduros e de 3,6 a 100% para o de frutos verdes. Na pesquisa realizada por Farias et al. (2007), para avaliar a eficácia da do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) no controle de *R. (B.) microplus*, verificou-se que este óleo apresentou atividade biológica sobre carrapato bovino, controlando 100% da reprodução. Soares (2003), testando *in vitro* Neem (*Azadirachta indica*) sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* do estado de Pernambuco, verificou controle de reprodução acima de 95% tanto para solução aquosa quanto para alcoólica. Entretanto esses resultados foram diferentes dos obtidos por Silva et al. (2009) que observaram 40,47% de mortalidade de larvas e 38,08% no controle de reprodução; e dos obtidos por Soares (2003) que, utilizando extrato aquoso e alcoólico de Capim cidreira (*Cymbopogon citratus*), verificou eficácia de 48,10% no controle de reprodução.

O extrato etanólico de *L. Floribundus* induziu mortalidade entre 45,30 e 100% de larvas *R. (B.) microplus* e estimou CL_{50} de 2,13 $mg.ml^{-1}$. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Silva et al. (2010) que ao avaliaram a atividade acaricida de *Palicourea marcgravii*, espécie da família Rubiaceae coletada na Amazônia, e verificaram que o extrato etanólico induziu a mortalidade de larvas entre 12,27 e 87,66 e estimou CL_{50} de 4,38 $mg.ml^{-1}$. Entretanto foram diferentes dos resultados obtidos por Silva et al. (2009), os quais verificaram que o extrato etanólico de *Piper aduncum* induziu a mortalidade de larvas de carrapato bovino entre 26,32 e 40,47%.

O extrato etanólico de *L. Floribundus* inibiu 100% da oviposição de *R. (B.) microplus* e estimou CI_{50} de 3,03. Resultados semelhantes foram encontrados por Pires et al. (2007) que, ao avaliarem a influência da *Simarouba versicolor* sobre a oviposição do carrapato bovino, observaram que a concentração de 17,2 $mg.ml^{-1}$ inibiu 100% da oviposição e estimou CI_{50} de 4,14 $mg.ml^{-1}$.

Confirmando o potencial tóxico de extratos de raízes de plantas do gênero *Lonchocarpus*, Corrêa (2006) avaliou a atividade inseticida de *L. Floribundus* sobre o pulgão preto dos citros (*Toxoptera citricidus*). A autora verificou que o extrato etanólico da raiz, na concentração de 5 $mg.ml^{-1}$, induziu a mortalidade acima de 50%, enquanto que o extrato aquoso da raiz causou um percentual similar de mortalidade na concentração de 10 $mg.ml^{-1}$.

Os extratos acetato de etila e etanólico de *L. floribundus*, na concentração de 5 $mg.ml^{-1}$, causaram um percentual de 100% no controle de reprodução de *R. (B.) microplus*. Davey et al. (2008) avaliaram a eficácia do acaricida sintético amitraz sobre o *R. (B.) microplus*, observando baixo percentual de controle de reprodução (34,60%), sendo este produto ineficaz como carrapaticida para uso em programas de controle do carrapato

bovino, verificando-se, ainda, que as cepas utilizadas nos testes biológicos, por estes autores, eram resistentes a este carrapaticida sintético do grupo das formamidinas.

O fenômeno da resistência aos carrapaticidas está amplamente difundido, sendo reconhecido por produtores como um dos principais problemas de curto prazo a ser solucionado (JONSSON, 1997). Estudos realizados por Gomes et al. (2011), para averiguar a sensibilidade do carrapato bovino a diferentes acaricidas sintéticos abrangendo sete princípios ativos pertencentes a três grupos químicos: amidinas, piretróides sintéticos e organofosforados, utilizados nas principais regiões pecuaristas de Minas Gerais, revelaram baixa suscetibilidade dos ácaros aos acaricidas sintéticos, evidenciando uma reduzida eficácia de todos os grupos químicos testados.

Uma das vantagens do uso de fitoterápicos para o controle do carrapato bovino, em relação aos acaricidas sintéticos, é que produtos naturais apresentam uma composição química variada e complexa, ocasionando assim um desenvolvimento lento da resistência dos parasitas (ROEL, 2002),

A atividade larvicida de *L. floribundus* sobre larvas são semelhantes aos encontrados por Barci et al. (2009) que, ao avaliarem a ação do fungo *Beauveria bassiana* sobre larvas de *R. (B.) microplus*, observaram mortalidade crescente nas diferentes concentrações utilizadas, induzindo percentuais de mortalidade entre 19,6 e 100%. Apesar da similaridade dos resultados encontrados pelos autores, a vantagem do uso de *L. floribundus*, em relação aos micro-organismos para controle do carrapato bovino, é devido à ação do extrato vegetal ocorrer em menor período de tempo, devido ao processo infectivo desses micro-organismos ser mais lento sobre o hospedeiro, além de necessitar de condições ambientais favoráveis como temperatura, umidade, luminosidade, radiação e outros fatores adequados para desenvolver o ciclo completo da relação fungo-hospedeiro (ALVES, 1998), como foi observado por Garcia et al. (2011) que, ao avaliarem a eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae*, pulverizados em pastagens infestadas naturalmente com *R. (B.) microplus*, verificaram que o uso desse micro-organismo não causou efeito deletério sobre a população do carrapato bovino, não havendo diferença significativa na contagem de larvas, tratadas e controle, nas pastagens. Estes autores atribuíram estes resultados a fatores climáticos como a chuva e o aumento da umidade.

Pesquisas realizadas por diversos autores (MARICONI, 1981; SAITO e LUCHINI, 1998; FAZOLIN et al., 2002; KATHRINA e ANTONIO, 2004; CLOYD, 2004; ALÉCIO, 2007) reportam a presença da rotenona em plantas da família Leguminosa (Fabaceae) e seu efeito tóxico para insetos e ácaros. A atividade biológica de *L. floribundus* sobre carrapato bovino pode ser devido a presença do constituinte químico rotenona nas raízes desta planta, pois foi reportado por Costa et al. (1999), que entre as plantas conhecidas como timbó, as que possuem os maiores teores de rotenona são as pertencentes aos gêneros *Derris* e

Lonchocarpus e a maior concentração desse composto se encontra nas raízes. Analisando a importância da rotenona no controle de *R. (B.) microplus*, leva-se em consideração que esse composto, por se encontrar na raiz da planta, necessita de plantio e produção em larga escala para ser bioindustrializado, pois se não houver um programa de uso sustentável, a coleta da raiz ocasionará a morte da planta e, conseqüentemente, impacto ambiental.

A utilização de extratos vegetais, ou seja, biomoléculas naturais em sinergia com outros princípios ativos distintos que aumentem a eficiência letal sobre *R. (B.) microplus*, pode tornar-se uma alternativa para a produção de um acaricida derivado de produtos naturais para o manejo e controle desse ácaro, a fim de substituir ou minimizar o uso de defensivos químicos sintéticos no campo. (PEREIRA et al., 2010)

6 CONCLUSÕES

Os extratos de *L. floribundus* apresentaram atividade biológica sobre *R. (B.) microplus*. Entre os três extratos avaliados, os extratos acetato de etila e etanólico apresentaram os melhores resultados quanto à mortalidade e controle de reprodução de *R. (B.) microplus*. Entretanto induziram a mortalidade de fêmeas ingurgitadas abaixo de 50%, não sendo possível estimar a concentração letal mediana. Todavia induziram a mortalidade total de larvas e foram eficazes no controle de reprodução. Ressaltando que o extrato etanólico, quanto aos valores de concentração letal mediana, apresentou maior toxicidade para larvas em relação aos outros extratos avaliados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresenta resultados que apontam para a possibilidade de serem realizadas outras pesquisas, considerando-se os processos de produção e de conservação dos extratos, formulações e o manejo adequado da utilização das soluções. Ressalta-se, também a necessidade da realização de estudos sobre os diversos componentes fitoquímicos da planta. Neste sentido, são necessários estudos mais aprofundados sobre a composição química do extrato de *L. floribundus*, para se identificar, além da rotenona, outros princípios ativos que também apresentem atividade biocida, podendo, inclusive, ser analisada a possibilidade de ocorrência de sinergismo e/ou antagonismo entre a rotenona e as demais moléculas presentes no extrato dessa espécie, avaliando-se individualmente seus efeitos e a possibilidade de uso no controle do carrapato bovino.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S.A. Method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**. College Park. V.18, p. 265-266, 1925.

AGANGA, A.A.; MOSASE, K.W. Tanin content, nutritive nvalue and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p.107-113, 2001.

ALÉCIO, M.R. Toxicidade do extrato de *Derris amazônica* Killip a adultos de *Cerotoma arcuatus* Olivier, 1971 (Coleoptera: Chrysomelidae). **Dissertação de mestrado**. 2007. Programa Integrado de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais da Amazônia – PIPGBTRN, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil, 2007.

ALMEIDA, M.A.O. **Controle de carrapatos: resistência e vacinas**. 2005. Disponível em: www.simentalsimbrasil.com.br. Acesso em 10 mai. 2010.

ALTIERI, M.G.; SILVA, E.N.; NICHOLLS, C.I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 2003. 226p.

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. 2 ed. FEALQ: Piracicaba, 1163p. 1998.

ANDREOTTI, R. Caracterização de inibidores de serinoproteases bmtis) presentes em larvas de carrapatos *Boophilus microplus* e o seu efeito no controle a infestação parasitária em bovinos. **Tese de doutoramento**. 2002. Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, Brasil, 2002.

ANDREOTTI, R. Imunoproteção de bovinos contra o carrapato *Boophilus microplus* a partir de inibidores serinoproteases. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

ARRIETA, M.C.; LESKIW, B.K.; KAUFMAN, W.R. Antimicrobial activity in the egg wax of the African cattle tick *Amblyomma hebraeum* (Acari:Ixodidae). **Experimental Applied Acarology**, v.39, p. 297-313, 2006.

BALASHOV, Y.S. (1972). Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals (translation from Russian). **Miscellaneous Publications of the Entomological**, v.8, n.5, p. 161-165, 1972.

BARCI, L.A.G.; ALMEIDA, J.E.M.; NOGUEIRA, A.H.C.; PRADO, A. P. Determinação da CL90 e TL90 do isolado IBCB66 de *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae) para o controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), Jaboticabal, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, supl. 1, p. 34-39, dez. 2009.

BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; DUARTE, J.M.B.; MATUSHIMA, E.R.; CAMPOS PEREIRA, M.; REHAV, Y.; KEIRANS, J.E.; FIELDEN, L.J. Ticks associated with wild animals in the Nhecolandia Pantanal, Brazil. **Annals of the New York of Sciences**, v. 916, p. 289-297, 2000.

BITTENCOURT, V.R.E.P.; MASSARD, C.L.; LIMA, A.F. Dinâmica da infecção do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). **Revista Universidade Rural – Série Ciênc. da Vida.**, v. 17, p. 83-88, 1995.

BORDIN, E.L. Carrapatos – Uma abordagem diferenciada. **A Hora Veterinária**. Ano 18, nº 103, p.23-28, 1998.

BORGES, L.M.F.; FERRI, PH.; SILVA, W.J.; SILVA, W.C.; SILVA, J.G. In vitro efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology.**, v.17, p.228-231, 2003.

BRAGA, R.M. Considerações para o controle do carrapato, mosca dos chifres e vermes gastrintestinais em bovinos de Roraima. Circular Técnica, 01. Boa Vista, RR: **Embrapa - CNPGC**, 2002. 16p.

BRUM, J.G.W. **Infecção em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) por *Cedecia lapagei* (Grimont et al., 1981): etiopatogenia e sazonalidade**. 1988. 95 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.1988.

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

CAMINHA FILHO, A.. **Timbó e rotenona: uma riqueza nacional inexplorada**. 2º Ed. Rio de Janeiro. Serviço de Informação Agrícola, 1940. 14 p.

CAMPOS PEREIRA, M.; SZABÓ, M.P.J.; BECHARA, G.H.; MATUSHIMA, E.R.; DUARTE, J.M.B.; REHAV, Y.; FIELDEN, L.J.; KEIRANS, J.E. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal Region: preliminary observations. **Journal of Medical Entomology.**, v. 37, p. 979-983, 2000.

CARDOSO, V. **Avaliação de diferentes métodos de determinação da resistência genética ao carrapato *Boophilus microplus*, em bovinos de corte**. Jaboticabal: Universidade Estadual de São Paulo, 2000. 108p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. São Paulo/SP. Ed. Melhoramentos, 1962. 305p.

CASTREJÓN, F.M.; CRUZ-VASQUEZ, C.; FERNÁNDEZ-RUVALCABA, M.; MOLINATORRES, J.; CRUZ, J.S.; PARRA, M.R. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants. **Parasitologia Latinoamericana.**, v. 58, n. 2-3, p. 118-121, 2003.

CATTO, J.B.; BIANCHIN, I.; SANTURIO, J.M.; FEIJÓ, G.L.D.; KICHEL, A.N.; SILVA, J.M. Sistema de pastejo, rotenona controle de parasitas em bovinos cruzados: efeito no ganho de peso e no parasitismo **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 37-43, out.-dez. 2009.

CHAGAS, A.C.S.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; PRATES, H.T.; PASSOS, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, jan-fev, p.109-114, 2003.

CLOYD, R.A. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**. v.17, n°3, p. 1-8, 2004.

CORBETT, C. E. **Plantas ictiotóxicas: farmacologia da rotenona**. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1940, 157p.

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

CORRÊA, O. **Doenças parasitárias dos animais domésticos**. Porto Alegre/RS: Editora Sulina, 1976. p.242-250.

CORRÊA, R.S. **Toxicidade de extratos de *Lonchocarpus floribundus* Benth (Timbó) sobre *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Pulgão preto dos citros) em condições experimentais**. Dissertação de mestrado. Agricultura no Trópico Úmido. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM, Brasil. 2006.

COSTA, J. P. C. **Efeito da variabilidade de timbós de diferentes regiões da Amazônia em *Musca domestica* L. (DÍPTERA: Muscidae)**. 1996. Dissertação. Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias- UNESP. Campo de Jaboticabal- SP. 119 pp,1996.

COSTA, J.P.C.; ALVES, S.M.; BELO, M. Teores de rotenona em clones de timbó (*Derris* spp., Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos em *Musca domestica* L. **Acta Amazonica**, v. 29, n°4, p. 563-573, 1999.

DAVEY, R.B., MILLER, R.J., GEORGE, J.E. (2008). Efficacy of amitraz applied as a dip against an amitraz-resistant strain of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) infested on cattle. **Veterinary Parasitology**, 152: 127-135.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. 230p.

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.

FAO Plant Protection Bulletin. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus microplus* spp. **FAO method**. v.19, n. 7, p.15-18, 1971.

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

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

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; DE LIMA, A.P.; ARGOLO, V.M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). Rio Branco: **Embrapa Acre**: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. n.37, 2002, 42p.

FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 3th ed. London: Cambridge University Press. 1971. 25p.

FRAGA, A.B.; ALENCAR, M.M.; FIGUEIREDO, L.A.; RAZOOK, A.G.; CYRILLO, J.N.S.G. Análise de Fatores Genéticos e Ambientais que Afetam a Infestação de Fêmeas Bovinas da Raça Caracu por Carrapatos (*Boophilus microplus*), **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1578-1586, 2003.

FRANQUE, M.P.; SANTOS, H.A.; SILVA, G.V.O.; TAJIRI, J.T.; MASSARD, C.L. Características biológicas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) a partir de infestação experimental em cão. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 4, p. 238-242.

FRAZZON, A. P.; da SILVA, VAZ JÚNIOR, I.; MASUDA, A.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 94, p. 117-125, 2000.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.S. **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2000. p. 9-20, 25p.

FURLONG, J.; PRATA, M.C.A. **Carrapato: Problemas e Soluções**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2005. p.7-17, 65p.

GARCIA – GARCIA, J.C.; GONZALES, I. L.; GONZALES, D.M; VALDÉS, M.; MÉNDEZ, L.; LAMBERTE, J.; D'AGOSTINO, B.; CITRONI, D.; FRAGOSO, H.; ORTIZ, M.; RODRIGUEZ, M.; SOTO DE LA FUENTE, J. Sequence variations in the *Boophilus microplus* Bm86 locus and implications for immunoprotection in cattle vaccinated with this antigen. **Experimental Applied Acarology**, v. 23, p. 883-895, 1999.

GARCIA M.V. **Aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* em pastagem visando o controle do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos**. 2008. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, SP, 2008.

GARCIA, M.V.; MONTEIRO, A.C.; SZABÓ, M.P.J.; MOCHI, D.A.; SIMI, L.D.; CARVALHO, W.M.; TSURUTA, S.A.; BARBOSA, J.C. Effect of *Metarhizium anisopliae* fungus on off-host *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from tick-infested pasture under cattle grazing in Brazil, **Veterinary Parasitology**. v. 01, n.03, p. 10-16, 2011.

GOMES, A.; KOLLER, W.W.; BARROS, A.T.M. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil, Santa Maria. **Ciência Rural**, v.41, n.8, p.1447-1452, 2011.

GONZALES, J.C. **O Controle do Carrapato do Boi**. 3. Ed. Porto Alegre: Universidade de Passo Fundo, 2003. 128p.

GONZALES, J.C. **O controle do carrapato dos bovinos**. Porto Alegre: Ed. Sulina, 1975. p.13-46/57-65, 103p.

GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. **Using SPSS for windows and macintosh – analyzing and understanding data**. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 2004. 457p.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; BORJA, G. E. M.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, n.125, p. 8-10, 2002.

HEIMERDINGER, A. **Extrato alcoólico de capim cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle do carrapato (*Boophilus microplus*) de bovinos leiteiros**. Santa Maria, RS, 2005. 78p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia,) - Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria Centro de Ciências Rurais, 2005.

HEWETSON, R.W. The inheritance of resistance by cattle to cattle tick. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 48, p. 299-303, 1972.

HOFFMAN, M. **Controle de parasitas em bovinos**. Agroecologia Hoje, nº 13, 2002. p. 24.

HOOGSTAL, H. Argasid and nuttallied ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**, v.1, n.24, p.135-238, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Efetivo nacional de bovinos cresce 1,5% em 2009. Artigo publicado em 24/11/2010**. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1761&id_pagina=1> Acesso em 15 de agosto de 2011.

IOSET, J.R.; MARSTON, A.; GUPTA, M.P.; HOSTETTSMANN, K. Five New Prenylated Stilbenes from the Root Bark of *Lonchocarpus chiricanus*. **Journal Natural Products**., nº64, 710-715. 2001.

JONSSON, N.N. Control of the cattle ticks (*Boophilus microplus*) on Queensland dairy farms. **Australian Veterinary Journal**, v.75, n.11, p.802-807, 1997.

KAAYA, G.P.; HASSAN, S. Entomopatogenous fungi as promising biopesticides for tick control. **Experimental Applied Acarology**, v. 24, p. 913-926, 2000.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. **Controle biológico de insectos mediante extractos botânicos**. In: CABRAL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control Biologico de Plagas Agrícolas**. Managua: CATIE, Série Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53, 2004, pp.137-160.

LABRUNA, M.B. Combate contra *R. (B) microplus*. In: PEREIRA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SZABÓ, M.P.J.; KLAFKE, G.M. (Orgs.) **Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência**. 1 ed. São Paulo: MedVet, 2008, p. 65–80, cap. 5.

LACEY, L.A.; FRUTOS, R.; KAYA, H. K.; VAILS, P. Insects pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological Control**, v.21, p.230-248, 2001.

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

LEEMON, D.M.; JONSSON, N.N. Laboratory studies on Australia isolates of *Metarhizium anosopliae* as a biopesticide for the cattle tick *Boophilus microplus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.97, p.40-49, 2008.

LIMA, R.R.; COSTA, J.P.C. **Registro de introdução de plantas de cultura pré-colombiana coletadas na Amazônia brasileira**. Belém: EMBRAPA – CPATU, documentos 58, 1991, 210p.

MAGALHÃES, A.F.; TOZZI, A.M.G.A.; SALES, B.H.L.N.; MAGALHÃES, E. G. Twenty-three Flavonoids from *Lonchocarpus subglaucescens* roots. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1459-1471, 1996.

MAGALHÃES, A.F.; TOZZI, A.M.G.A.; SALES, B.H.L.N.; MAGALHÃES, E.G.; SANNOMIYA, M.; SORIANO, M.D.P.C.; PEREZ, M.A.F. Flavonoids from *Lonchocarpus montanus* and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, p. 351-367. 2007.

MARICONI, F.A.M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas: com uma introdução sobre o estudo dos insetos**. 7 ed. São Paulo: Nobel. 1981, 466p.

MARIÑOS, C.; CASTRO, J.; NONGRADOS, D. Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* (Smith,1930) como regulador de larvas de mosquitos. **Revista Peruana de Biología**, vol.11, no.1, p.87-94, 2004.

MARTINEZ, S.S. **O NIM – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção**. Instituto agrônomo do Paraná. Editado por Sueli Souza Martinez. Londrina: IAPA, 2002. p. 9- 44/111-120, 142p.

MARTINS, J.R. Manejo da resistência aos carrapaticidas. **XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses**, Ouro Preto, MG, p.114-115. 2004.

MARTINS, J.R., LEITE, R.C., FURLONG, J. First evaluation of doramectin against a strain of the cattle tick *Boophilus microplus* with characteristic of resistance to the macrocyclic lactones in the field. In: International seminar of animal parasitology, 5. 2003, Merida, Yucatan, México, **Anais...** Merida: 2003, p. 28-31.

MARTINS, J.R.; FURLONG, J.; LEITE, R.C. Controle de Carrapatos. In: BARROS-BATTEST, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo:Vox/ICTTD-30/BUTANTA, 2006. Cap. 9, p.145-153.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna, São Paulo: EMBRAPA. Meio Ambiente, 2000, 388p.

MENDES, M.C.; PINTO LIMA, C.K.; PEREIRA J.R. Práticas de manejo para o controle do carrapato *rhhipicephalus (boophilus) microplus* (acari: ixodidae) em propriedades localizadas Na região de pindamonhangaba, vale do paraíba, São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo., v.75, n.3, p.371-373, 2008.

MURRELL, A.; BARKER, S.C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari:Ixodidae). **Systematics Parasitology**, v.56. nº3, p.169-72, 2003.

ODHIAMBO, T.R. **Current themes in tropical science: physiology of ticks**. Oxford, Pergamon Press, 1982, 508p..

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

OLIVO, C.J.; HEIMERDINGER, A.; ZIECH, M.F.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, F.; CHARÃO, S.P. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**., v.39, n.4, jul, 2009.

PATARROYO, J.H.; PORTELA, R.W.; DE CASTRO, R.O.; COUTO PIMENTEL, J.; GUZMAN, F.; PATARROYO, M.E.; VARGAS, M.I.; PRATES, A.A.; DIAS MENDES, M.A. Immunization of cattle with synthetic peptides derived from the *Boophilus microplus* gut protein (Bm86). **Veterinary Immunology and Immunopharmacology**, v. 88, n. 3-4, p. 163-172, 2002.

PEREIRA J.R.; FAMADAS, K.M. Avaliação in vitro da eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região do vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 443-450, out./dez., 2004.

PEREIRA, C.D.; SOUZA, G.R.L.; BAFFI, M.A. Carrapato dos bovinos: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas, Planaltina, DF: **EMBRAPA CERRADOS**, p.12-14, 28p, 2010.

PEREIRA, M.C. *Boophilus microplus* - Revisão taxionômica e morfo biológica. Rio de Janeiro: **Químico Divisão Veterinária**, p.7-45, 105p, 1982.

PEREIRA, M.C.; LABRUNA, M. B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* In: PEREIRA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SZABÓ, M.P.J.; KLAFKE, G.M. **Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência**. São Paulo: MedVet, 2008. Cap. 3, p. 15-53.

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). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.4, p.23-26, 2007.

PRATA, M.C.A.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Biologia da fase não parasitária de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE) de origem caprina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 107-111, 1999.

ROCHA, C.M.B.M. O carrapato dos bovinos. **Boletim Técnico: Série Extensão da Universidade Federal de Lavras nº 32**. Editora UFLA, ano VI, n. 06, 1997.

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

ROSA, F. T. C. **Carne bovina: cuidado com meias verdades**. Artigo publicado em 19/02/2009. Disponível em <<http://www.pecuaria.com.br/info.php?ar=1&&ver=5188>> Acesso em 10 de julho de 2011.

SAITO, M.L.; LUCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, documentos 12, 46p, 1998.

SALCEDO, J.H.P. **Vacina contra carrapato bovino**. UFV. Mimeo, 2005. 5p.

SANTOS, S.P. **A química dos inseticidas, parte II**. Lisboa: Edições CECUL. Artigo 86, 2002. p. 37-41.

SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. **Bulletin of Entomological Research**, n.56, p.389-405, 1966.

SILVA, W.C. **Potencialidade acaricida sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e estudo fitoquímico de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Palicourea marcgravii* St. Hil (Rubiaceae) e *Derris negrensis* Benth (Fabaceae).** 2008. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil, 2008.

SILVA, W.C.; MARTINS, J.R.S.; SOUZA, H.E.M.; HEINZEN, H.; CESIO, M.V.; MATO, M.; ALBRECHT, F.; AZEVEDO, J.L.; BARROS, N.M. Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon Forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**. v.164, p.267-274, 2009.

SILVA, W.C.; MARTINS, J.R.S.; CESIO, M.V.; AZEVEDO, J.L.; HEINZEN, H.; BARROS, N.M. Acaricidal activity of *Palicourea marcgravii*, a species from the Amazon forest, on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**. v.179, p.189-194, 2010.

SOARES, M.C.S.C. **Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma.** 2003. 46p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

SOUSA, L.A.D.; SOARES, S.F.; JUNIOR, H.B.P.; FERRI, P.H.; BORGES, L.M.F. Avaliação da eficácia de extrato oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n.1, p. 36-40, 2008.

SOUTELLO, R.V.G.; Seno, M.C.Z.; OLIVEIRA, F.P.; VACARI, A.C.; TEIXEIRA, W.F.P.; FONZAR, J.F.; COELHO, W.M.D. Ocorrência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em novilhas da raça Nelore, Guzerá e Mestiços Angus. **Veterinária e Zootecnia**. V. 15, n.2. supl.1, ago, p. 81, 2008.

SUGUISAWA, L.; SOUTELLO, R.V.G. Livres do carrapato/ Os carrapatos causam perdas de 8 dólares/cabeça/ano no Brasil e a seleção de animais geneticamente resistentes aparece como a melhor alternativa para amenizar o problema. **Cultivar Bovinos**, ano 1, n. 9, p. 18-20, 2004.

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.; LABRUNA, M.B.; CAMPOS PEREIRA, M.; DUARTE, J.M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (*Blastocherus dichotomus*) from Southeast Brazil: infestation before and after habit loss. **J. Med. Entomol.**, v. 40, n. 3, p. 268-274, 2003.

TAYLOR, J.L.S.; RABE, T.; MCGAW, L.J.; JÄGER, A.K.; VAN STADEN, J. Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. **Plant Growth Regulation**, Springer, v. 34, n. 1, p. 23-37, set. 2001.

TERUEL, G.M.; SANTOS, M.S.P.; GOMES, I.T.; ASTRAUSKAS, J.P.; NAGASHIMA, J.C.; SACCO, S.R.; AVANZA, M.F.B.; BATISTA, J.C. Anaplasmosse bovina – Relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça/SP. Ano VII – Número 13 – Julho de 2009 – Periódico Semestral.

TOZZI, A.M.G.A.; SILVA, M.J. Sinonimizações em *Lonchocarpus* Kunth (Leguminosae - Papilionoideae - Millettieae). **Rodriguésia**, v. 58, p. 275-282, 2007.

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

VERÍSSIMO, C. J. **Controle biológico e alternativo do carrapato do boi**. APTA/SAA-SP, mimeo, 2004. 3p.

VIDOTTO, M.C.; VIDOTTO, O.; VENÂNCIO, E.J. Cloning sequencing and antigenic characterization of rVirB9 of anaplasma marginale isolated from Paraná State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, p. 460-462, 2008.

VIEIRA, M.I.B.; LEITE, R.C.; SACCO, A.M.S.; SILVA, J.G.C. Estratégias de controle do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) e influência na estabilidade enzoótica da babesiose bovina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 12, n. 4, p.139-144, out./dez. 2003.

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

WIESBROOK, M.L. **Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides?** Illinois Pesticide Review, Urbana, 2004. vol. 17, n.3.

WILLADSEN P.; RIDING G.A.; MCKENNA R.V.; KEMP D.H.; TELLAM R.L.; NIELSEN J.N.; et al. Immunologic control of a parasitic arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. **Journal of Immunology**, p.143:1346–1351, 1989.

WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 71, p. 209-222,1997.

WILLADSEN, P. Ticks control: thoughts on a research agenda. **Veterinary Parasitology**., v.138, p. 161- 168, 2006.