

T 636.089 69

C433e

2001

**Ana Carolina de Souza Chagas**

**Efeito acaricida de produtos naturais e sintéticos de plantas e solventes sobre  
*Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)**

**Tese apresentada à Universidade Federal de  
Minas Gerais, como requisito parcial para  
obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal.  
Departamento de Medicina Veterinária  
Preventiva  
Orientador: Romário Cerqueira Leite**

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária da UFMG  
2001**

C433e  
2001 Chagas, Ana Carolina de Souza, 1974 -  
Efeito acaricida de produtos naturais e sintéticos de plantas e  
solventes sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari:  
Ixodidae) / Ana Carolina de Souza Chagas. – Belo Horizonte:  
UFMG – Escola de Veterinária, 2001.  
58p.: il  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais,  
Escola de Veterinária  
1. *Boophilus microplus* – Controle – Teses. 2. Carrapato –  
Controle - Teses. 3. Acaricidas – Teses. 4. I. Título.  
CDD – 636.089 696

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

20/12/01

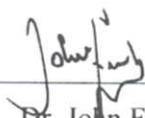
2069901-08

0324.27760

Tese defendida e aprovada em 19 de dezembro de 2001, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite  
Orientador



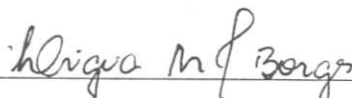
Dr. John Furlong



Dr. Hélio Prates



Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira



Profa. Dra. Lígia Miranda F. Borges

A Deus por ter colocado as pessoas certas no meu caminho.

Ao meu marido Luiz Gonzaga Nascimento Chagas, o grande incentivador do meu trabalho.

Aos meus pais Célia D'Assunção de Souza e Antônio José de Souza, à minha avó Maria das Dores Assunção e à minha irmã Luciana Assunção de Souza, pela paciência e compreensão.

Aos meus padrinhos Wilma Paiva Rocha e José Expedito Paiva Rocha, por terem me acolhido como a uma filha em seu lar, durante minha permanência em Belo Horizonte.

Dedico este trabalho.

---

“Tirem-me a esperança de mudar o futuro, e enlouquecer-me-ão”

Zargwill

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Romário Cerqueira Leite, por ter me concedido toda a liberdade possível em todos os momentos do meu doutorado, fazendo-me crescer como profissional e pessoa.

Ao Dr. John Furlong, pesquisador da Embrapa Gado de Leite, pelo grande amigo que é, fonte inesgotável de apoio, incentivo e orientação.

Ao Dr. Hélio Teixeira Prates, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, por ter confiado em mim ao fornecer todos os produtos resultantes de sua tese de doutorado, abrindo dessa maneira um novo caminho para minhas pesquisas durante o meu doutorado.

Ao Prof. Wanderlei Passos da UFRRJ, por ter me prestado indispensável auxílio na manipulação dos óleos essenciais de eucalipto que utilizei, pela paciência, disposição em ajudar e apoiar meu trabalho desde o primeiro contato.

Ao funcionário da Embrapa Gado de Leite Éder Sebastião dos Reis, pelo enorme auxílio na execução desta tese e pelos alegres momentos de convivência.

Aos funcionários da sede experimental da Embrapa Gado de Leite em Coronel Pacheco, Klinger Aparecido de Souza e Placidino de Souza Filho, pelo suporte na manutenção da colônia de carrapatos e pelo companherismo.

Ao funcionário da Embrapa Milho e Sorgo, Nilson Machado Lopes, pela paciência incentivadora durante a transmissão dos ensinamentos na área de química.

Ao pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Dr. Rui da Silva Verneque, pelo grande auxílio na análise estatística deste trabalho.

À Professora do Departamento de Química da UFMG, Dra. Isabel Cristina Pereira Fortes, pela análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas dos óleos essenciais de eucalipto.

Aos coordenadores, professores e colegas do Curso de Doutorado da Escola de Veterinária da UFMG e às funcionárias da Secretaria de Pós-Graduação, pelo apoio, transmissão de conhecimentos, agradável convivência e paciência.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, por permitir o desenvolvimento de minhas pesquisas no Laboratório de Acarologia, possibilitando assim minha permanência em Juiz de Fora, próxima dos meus familiares.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo importantíssimo auxílio financeiro concedido através de bolsas de estudo.

Aos animais que, em prol desta pesquisa, foram utilizados como hospedeiros dos carrapatos, o reconhecimento da autora.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a execução deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO-----	11
ABSTRACT-----	11
INTRODUÇÃO-----	13
OBJETIVOS-----	14
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-----	14
1)ATIVIDADE REPELENTE E ACARICIDA DE FORRAGEIRAS -----	14
2) UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PARASITOS---	16
3) MÉTODOS LABORATORIAIS DE AVALIAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS CONTRA CARRAPATOS E A UTILIZAÇÃO DE SOLVENTES-----	18
METODOLOGIA-----	20
ARTIGO 1-----	21
ARTIGO 2-----	29
ARTIGO 3-----	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS-----	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	50
APÊNDICE-----	57

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Acarologia da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, MG, onde foram feitos três experimentos distintos com o carrapato *Boophilus microplus*. 1) No primeiro experimento estudou-se a atividade larvicida de 33 derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona. Estas duas substâncias são bem semelhantes aos monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$  - pineno presentes no óleo essencial de *Stylosanthes*, cuja ação larvicida é bem conhecida. Os produtos testados, sob a forma de triagem biológica utilizando-se teste de larvas, não podem ser considerados potenciais candidatos a acaricidas. A mortalidade média não ultrapassou 5% em todos os testes realizados, indicando que a clorossulfonação não é a rota de síntese mais adequada para a obtenção de derivados sintéticos com efeito larvicida. 2) No segundo experimento avaliou-se o efeito acaricida de óleos essenciais e de concentrados emulsionados de espécies do gênero *Eucalyptus* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas. O citronelal é o principal componente do óleo de *E. citriodora*, sendo responsável por sua ação acaricida. O mesmo ocorre com o 1,8-cineol em *E. globulus*. Em *E. staigeriana*, existem várias substâncias que agem sinergicamente contra *B. microplus*. O óleo essencial de *E. citriodora* matou 100% dos carrapatos a uma concentração média de 17,5%, *E. globulus* a 15% e *E. staigeriana* a 12,5%. Os concentrados emulsionáveis de *E. globulus* mataram 100% dos carrapatos a uma concentração média de 9,9% e *E. staigeriana* de 3,9%. 3) No terceiro experimento testou-se a sensibilidade de larvas e fêmeas ingurgitadas a diferentes solventes, em três métodos. A utilização do azeite em testes de larvas com papel impregnado foi dispensável, o que não ocorreu em testes de imersão de fêmeas ingurgitadas com compostos hidrofílicos. A mortalidade média causada por solventes foi menor nos testes com papel impregnado, aumentando nos testes de imersão de larvas e de fêmeas. Solventes de baixo peso molecular e pouca viscosidade não interferiram na mortalidade média, principalmente em concentrações inferiores a 76%. A utilização do grupo controle nestes testes é indispensável.

Palavras-chave: *Boophilus microplus*, metodologia, controle alternativo, derivados arilsulfonílicos, *Eucalyptus*, testes biológicos, solventes.

## ABSTRACT

The present work was carried out at the Acarology Laboratory of Dairy Cattle Research Center in Juiz de Fora, MG. Three experiments were designed with *Boophilus microplus* cattle tick. 1) In the first experiment, the aim was to study the larvicidal activity of thirty-three camphor and isopinocampone arilsulphonyl derivatives. These two substances are very similar to the  $\alpha$ - and  $\beta$  - pinene monoterpenes, presents in *Stylosanthes* essential oil. They have larvicidal action well known. The products tested like biological screening in larvae test can not be considered potential candidates to acaricides. Mortality average did not exceed 5% in all trials what evidenced that chlorosulfonation was not the adequate synthetic rote to obtain derivatives with larvicidal effect. 2) In the second experiment acaricide action of essential oils and concentrated emulsion of *Eucalyptus* species were studied against larvae and engorged females. Citronelal is the major component of *E. citriodora* essential oil, being responsible for its acaricide action. The same happens with 1,8-cineole in *E. globulus*. In *E. staigeriana*, there are many substances

involved in a synergic action against *B. microplus*. *E. citriodora* essential oil killed all ticks in an average concentration of 17,5% as compared to *E. globulus* with 15% and *E. staigeriana* with 12,5%. *E. globulus* concentrated emulsion killed all ticks in an average concentration of 9,9% and *E. staigeriana* of 3,9%. 3) In this experiment it was investigated differences in sensitivity between larvae and engorged female subjected to different solvents and methods. Utilization of olive oil in impregnated paper larvae test was unnecessary, but important in engorged female immersion test, with hydrophilic solvents. The mean mortality caused by solvents was small in impregnated paper larvae test, increasing in immersion tests of larvae and female. Solvents with low molecular weight and viscosity caused little interference in the average mortality, mainly in concentrations below to 76%. The use of control group is indispensable.

Key words: *Boophilus microplus*, methodology, alternative control, arilsulphonyl derivatives, *Eucalyptus*, biological tests, solvents.



## INTRODUÇÃO

O aumento da demanda mundial por proteínas de origem animal tem levado a bovinocultura a usufruir de tecnologias que visem produzir cada vez mais e em menor tempo e espaço. Essas técnicas têm proporcionado grande desequilíbrio na interação parasito-hospedeiro, levando a prejuízos cada vez maiores causados por parasitos como os carrapatos (Labruna et al., 1999). *Boophilus microplus* é o carrapato que mais causa prejuízo à agropecuária, chegando este prejuízo a ser 213 vezes superior aos recursos do Ministério da Agricultura para todas as atividades de defesa sanitária animal, caracterizando-se como a "parasitose de um bilhão de dólares" (Horn et al., 1983).

A dependência de poucas bases químicas carrapaticidas disponíveis no mercado, aliada à sua má utilização, levou à dispersão generalizada da resistência das populações do carrapato, chegando-se ao ponto em que a maioria dos produtos comerciais no Brasil não apresentam eficiência superior a 75% (Furlong, 1999). Segundo Shidrawi (1997), durante as últimas décadas, a resistência a pesticidas tem sido o problema técnico mais importante encontrado nos programas de controle de vetores e pragas, na área agrícola, na medicina veterinária e na saúde pública. Problemas de resistência a acaricidas e acumulação de resíduos no leite e na carne dos bovinos e no meio ambiente, demonstram a necessidade de se buscar um controle integrado que permita o uso mais eficiente de acaricidas e a sua associação com outros métodos de controle (Nolan, 1990; George, 1992). Atualmente se propõe diminuir a dependência do uso de químicos mediante o desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), os quais devem estar baseados na combinação racional e estratégica de métodos químicos e não químicos para o controle. Dentro destes últimos, se incluem o uso de animais

resistentes, a rotação e descanso das pastagens, o uso de extratos vegetais e a aplicação de vacinas contra o carrapato (Walker et al., 1988).

A utilização de gramíneas com propriedades repelentes ou letais para as larvas de carrapatos tem sido sugerida por alguns autores: Thompson et al. (1978), Sutherst et al. (1982) e Farias et al. (1986). Brum & Teixeira (1992 a, b) obtiveram bons resultados utilizando as bactérias *Cedecea lapagei* e *Escherichia coli* no controle biológico de *B. microplus*. O uso de nematóides entomopatogênicos tem sido investigado contra várias espécies de carrapatos: *Amblyomma cajennense*, *A. maculatum*, *Boophilus annulatus*, *B. microplus*, *Dermacentor variabilis*, *Ixodes scapularis*, *Rhipicephalus sanguineus* (Samish & Glazer, 1992; Mauléon et al., 1993; Hill, 1998; Kocan et al., 1998); formulações contendo esses nematóides entomogênicos já são comercializadas (Connick et al., 1993; 1994). Recentemente, fungos entomopatogênicos e a sua utilização no controle biológico do carrapato têm sido pesquisados (Bittencourt, 1999; Samish, 1999). Os testes realizados com vacinas contra carrapatos indicaram bons resultados em caso de baixo desafio parasitário, devendo ser utilizadas em conjunto com tratamentos carrapaticidas. Estes últimos terão a função de evitar uma superpopulação de carrapatos nas pastagens, garantindo uma boa eficácia da vacina, a qual, por outro lado, garantirá um menor número de tratamentos carrapaticidas durante o ano (Labruna et al., 1999).

Uma árvore indiana conhecida como *Azadirachta indica* tem sido muito pesquisada em função dos efeitos negativos que tem apresentado contra várias pragas (Williams, 1993; Dua et al., 1995; Nagpal et al., 1995; Pictrosevoli et al., 1999).

Alguns dos métodos propostos são interessantes, mas são frequentemente de pouca praticidade (Uilenberg, 1996), outros no entanto estão começando a ser estudados

e parecem ser promissores. Segundo Flores & Silva (1992), observa-se claramente que o paradigma biológico está substituindo gradativamente o paradigma químico. Atualmente, os movimentos sociais como os do meio ambiente, as preocupações dos consumidores e o crescente interesse social pela saúde e nutrição, o contexto econômico em mudança e as prioridades e regulamentos governamentais para agricultura, tudo isso tem direcionado a escolha de problemas de pesquisa, na busca de soluções e alternativas para pelo menos minimizar o uso de produtos químicos (Sousa, 1998).

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Estudar metodologias que se apliquem a testes com produtos naturais de uso potencial no controle do carrapato *B. microplus*.

### Objetivos específicos

- 1) Testar a atividade larvicida de derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona no carrapato *B. microplus*, ajustando a metodologia para trabalhar com produtos em pequena quantidade;
- 2) Avaliar o efeito acaricida dos óleos essenciais de diferentes espécies do gênero *Eucalyptus* e permitir que a manipulação dos mesmos crie produtos menos tóxicos utilizáveis no controle de *B. microplus*;
- 3) Testar a sensibilidade do carrapato *B. microplus* a diferentes solventes, observando as possíveis diferenças entre larvas e fêmeas ingurgitadas submetidas

aos mesmos, e ainda detectar diferenças entre os métodos utilizados na avaliação do efeito acaricida.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1) Atividade repelente e acaricida de forrageiras

Wilkinson (1977) afirma que estádios de vida livre de vários carrapatos estão associados a um tipo particular de vegetação, recebendo proteção contra a dessecação provocada pelo sol e pelos ventos secos, no entanto algumas vezes a vegetação também pode prejudicar o carrapato. Vários estudos surgiram diante da possibilidade de utilização das forrageiras na manutenção ou eliminação das populações de carrapatos no campo. A idéia seria combinar essa ferramenta a um sistema de controle tradicional, minimizando a utilização de acaricidas e reduzindo custos.

A graminça forrageira *Melinis minutiflora* ou capim-gordura, há muito tempo tem sido estudada como controladora de carrapatos. Segundo Efwatakala Grass (1922), a ação repelente observada nessa graminça é provocada pelo óleo secretado nos pêlos glandulares. Menéndez (1924) publicou um artigo sobre as propriedades repelentes de *M. minutiflora* no carrapato *Margaropus annulatus australis* (Fuller), atualmente *B. microplus*, afirmando que essa graminça não mata as larvas e que as plantas invasoras da pastagem servem como suporte das mesmas, tornando possível a infestação dos bovinos. Rosenfeld (1925) concluiu que o capim-gordura mata algumas larvas apenas por impedir que atinjam o hospedeiro, mas não de maneira direta. Nove anos mais tarde, De Jesus (1934) também observou os efeitos dessa graminça em *Boophilus australis*, atualmente *B. microplus*, indicando além do efeito repelente, um efeito também letal por

exaustão (as larvas ficam presas e tentam soltar-se da secreção viscosa que cobre os pêlos epidérmicos) e por asfixia (causada pela secreção).

Thompson et al. (1978) analisaram os efeitos de seis espécies de gramíneas diferentes contra larvas de *B. microplus*. *M. minutiflora* demonstrou possuir maior propriedade repelente, enquanto *Andropogon gayanus* exibiu a habilidade de manter uma infestação de carrapatos baixa e constante. Segundo os mesmos autores, *M. minutiflora*, em função de sua propriedade repelente, tem seu uso recomendado para o controle em zonas periendêmicas, onde seria menos provável ocorrer a reinfestação acidental. Já *A. gayanus* poderia ser utilizada em áreas endêmicas, onde a população de carrapatos poderia ser mantida a níveis economicamente aceitáveis, impedindo que o gado fique susceptível aos agentes de doenças transmitidas por esse carrapato.

Segundo Sutherst et al. (1982), *M. minutiflora* reduz a sobrevivência larval, mas seu efeito é pequeno e vagaroso. Nesse trabalho, observou-se que as espécies *Stylosanthes scabra* e *S. viscosa* são cobertas por tricomas glandulares que secretam um fluido viscoso, que imobiliza e mata as larvas de *B. microplus* em 24h, enquanto o mesmo não aconteceria em *S. hamata*. Esse fluido viscoso não tem ação repelente, não dando chance para que as larvas busquem por plantas alternativas, como ocorre em *M. minutiflora*. Zimmerman et al. (1984) observaram os efeitos de 15 genótipos do gênero *Stylosanthes* em *B. microplus* e as menores sobrevivências ocorreram em *S. scabra* (58,8%) e *S. viscosa* (67,5%). Observou-se também que a idade da planta e as condições do vento podem influenciar os resultados dos experimentos. Lopes et al. (1970) detectaram a ação de repelência e letalidade de *M. minutiflora* sobre as larvas de carrapato na Colômbia. Neste mesmo país, Aycardi et al. (1984) fizeram uma contagem de carrapatos adultos significativamente maior em animais que pastejaram em *Brachiaria decumbens* do

que aqueles que pastejaram em *A. gayanus*, *M. minutiflora* e em pastos nativos.

Novamente as leguminosas *S. scabra* e *S. viscosa* e as gramíneas capim-gordura (*M. minutiflora*), capim-braquiária (*Brachiaria ruziziensis*) e capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) foram testadas por Farias et al. (1986), quanto às suas propriedades de antibiose (efeitos adversos da planta sobre a biologia do parasito, que o impede de alcançar o hospedeiro) e antixenose (algo que conserva o parasito afastado). Dentre essas espécies potencialmente úteis ao controle do carrapato, destacou-se o capim-gordura, que reduziu em 95% a população de larvas infestantes de *B. microplus*. O capim-elefante e o capim-braquiária revelaram pouca ou nenhuma interferência no comportamento das larvas.

Segundo Sutherst et al. (1988), *S. scabra*, *S. viscosa* e *S. guianensis* foram as espécies que mais dificultaram a ascensão de larvas de *B. microplus*, prendendo-as antes que chegassem à extremidade. Uma alta densidade de cerdas em conjunção com uma viscosidade média, também previnem a ascensão das larvas. Barros & Evans (1989) obtiveram resultados no estado do Rio de Janeiro, onde detectaram ser *Brachiaria brizantha* e *M. minutiflora* letais às larvas de *B. microplus*, embora esta última apresente a desvantagem de possuir ação repelente. Mais recentemente, Fernandez-Ruvalcaba et al. (1999) observaram que a ação acaricida foi significativa ( $p < 0,05$ ) em *S. humilis* (3% de sobrevivência) e em *S. hamata* (12% de sobrevivência), em estudos a campo no México.

Após tantos trabalhos realizados, E. A. Betancourt (Com. Pes., 1999) comenta que *M. minutiflora* não é utilizada como uma alternativa de controle nos pastos da Colômbia por vários motivos: esta espécie cresce em áreas de morro, de solos geralmente pobres e possui menor valor nutricional que outras forrageiras, além de ser pouco resistente ao pisoteio. Estes fatores têm limitado sua difusão e seu

emprego no controle do carrapato. Norval et al. (1983) comentam que *Stylosanthes* spp. estimula as larvas de carrapato a buscarem uma planta alternativa no campo, além disso esta leguminosa praticamente não tem nenhum efeito em ninfas e adultos, (possuem deslocamento horizontal principalmente) sendo assim menos útil ainda no controle de carrapatos trioxenos. Resultados favoráveis e desfavoráveis foram encontrados nos trabalhos de avaliação do efeito acaricida de *M. minutiflora* e espécies do gênero *Stylosanthes*, demonstrando que o genótipo das espécies forrageiras, sua idade, tipo de solo em que são cultivadas e os fatores climáticos de cada região, podem juntos interferir na sua atividade glandular provocando diferenças nos resultados (Farias et al., 1986). Wilson & Sutherst (1990) comentam que seria necessário que praticamente toda a pastagem se constituísse de *Stylosanthes* para que seu poder de controle sobre *B. microplus* fosse realmente efetivo.

Na tentativa de se utilizar de alguma forma o potencial dessas forrageiras, iniciaram-se pesquisas nas quais buscava-se fazer um levantamento dos componentes químicos que fossem efetivamente responsáveis pela ação letal nos carrapatos. Segundo Sutherst & Wilson (1986), o efeito tóxico observado no gênero *Stylosanthes* se deve a uma mistura dos terpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno. Alvarez et al. (1986) estudaram os constituintes químicos do óleo essencial de *M. minutiflora* livre de ceras, encontrando os ácidos graxos palmítico, araquídico, oléico, linoléico, linolénico, esteárico, behênico, láurico e mirístico; os esteróides colesterol,  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol e campesterol; o triterpeno lupeol e  $\beta$ -caroteno; e em menor proporção terpenos e cumarinas. Hernández et al. (1987) observaram a ação repelente, acaricida e ovicida de 3 frações obtidas dos extratos de *M. minutiflora*. O extrato composto pelo óleo essencial dessa gramínea reduziu a infestação natural de *B. microplus* em 92%, tendo esta ação uma natureza química e não física como

acreditava-se, ocorrendo uma boa correlação entre os experimentos "in vivo" e "in vitro". Prates et al. (1993) na tentativa de estudar os componentes presentes no óleo essencial do capim gordura, observaram que esta gramínea não possui  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno como em *Stylosanthes*, conseguindo identificar o monoterpeno 1,8 cineol (segundo componente em abundância) e o n-hexanal. Observaram também que o  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno matam larvas de *B. microplus* em 10 minutos, possuindo o mesmo efeito quando associados. Dando continuidade a esse trabalho, Prates et al. (1998a) observaram que o óleo essencial do capim gordura provoca a mortalidade de 100% das larvas de *B. microplus* em 10 minutos. O 1,8 cineol e o n-hexanal também causaram mortalidade de 100% das larvas em 5 minutos. Segundo os mesmos autores, muitos desses componentes poderiam ser úteis no desenvolvimento de um inseticida mais seguro *in natura*, ou em uma formulação adequada, ou ainda por meio de uma transformação química.

## 2) Utilização de extratos vegetais no controle de parasitos

Desde a Roma antiga até os dias presentes, o homem tem utilizado extratos de plantas nas mais diversificadas áreas. São mais de 2.000 espécies conhecidas com propriedades inseticidas, mas estima-se que somente 5 a 15% dos vegetais superiores têm sido estudados e utilizados como fonte de compostos biologicamente ativos. No Brasil especificamente, acredita-se que 99% das espécies da flora não têm suas substâncias químicas conhecidas. Tal fato é alarmante em função do risco de extinção que essa flora sofre, antes de ser estudada e catalogada (Balandrin et al., 1985).

As plantas produzem uma grande variedade de alomônios para protegê-las dos insetos fitófagos e outros herbívoros. É provável que a grande maioria dos metabólitos secundários das plantas são biosintetizados para deter a predação. O

homem tem usado algumas dessas toxinas para seu próprio benefício: substâncias tais como nicotina, rotenona e piretrinas têm sido utilizadas como inseticidas (Wood, 1983).

Karr & Coats (1988) investigaram as propriedades inseticidas do  $\alpha$ -limoneno, um monoterpênico encontrado no óleo essencial de frutas do gênero *Citrus*, como a laranja e o limão. O  $\alpha$ -limoneno possui baixa toxicidade contra mamíferos, tendo portanto um apelo comercial significativo como um inseticida sintético alternativo. Nenhuma atividade residual foi encontrada, no entanto, essa substância só demonstrou algum efeito em altas concentrações, indicando não possuir toxicidade suficiente contra os insetos testados. Já nos trabalhos com pragas de grãos armazenados, observou-se que o R-(+)-limoneno matou 100% de *Tribolium castaneum*, assim como demonstrou ter o mesmo efeito para *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* e *S. zeamais* (Prates et al., 1995; Santos et al., 1997; Prates et al., 1998b). Nestes trabalhos, assim como em Santos et al. (1995), também pode-se encontrar referências sobre a ação efetiva do 1,8-cineol contra as mesmas espécies.

Klocke et al. (1987) estudaram os efeitos do monoterpêno 1,8-cineol (eucaliptol), presente no óleo essencial de *Hemizonia fitchii* (Asteraceae, Compositae), contra o mosquito *Aedes aegypti*. Embora essa substância não tenha exibido atividade larvicida significativa, ela foi moderadamente efetiva como um repelente da picada do inseto e altamente efetiva como um repelente da oviposição do mesmo. Salloum & Isman (1989) fizeram um estudo com 6 espécies de plantas da mesma família e seu efeito negativo sobre a lagarta *Peridroma saucia*, que causa grandes danos à horticultura. Duas das espécies, *Artemisia tridentata* e *Chamomilla suaveolens* provocaram redução significativa da taxa de crescimento larval. Macêdo et al. (1997), fizeram um estudo da atividade larvicida dos extratos de 83 espécies de plantas dessa

família contra *Aedes fluviatilis*. Dentre elas, *Tagetes minuta* e *Eclipta paniculata* foram as mais ativas. Trabalhando também com a família Asteraceae, Dunkel & Sears (1998) estudaram as propriedades fumigantes de *Artemisia tridentata*, afirmando que os terpenos com maior atividade sobre as pragas de grãos armazenados são 1,8-cineol e cânfora. O material da planta forneceu uma formulação natural, que deve ser convenientemente diluída a nível seguro, fornecendo uma alternativa ao brometo de metila na proteção de grãos armazenados.

A substância 1,8-cineol está presente em muitas espécies de *Eucalyptus*, que na Austrália, já são conhecidos por causarem repelência em insetos (Cribb & Cribb, 1983) e são utilizados em algumas formulações repelentes (Jacobson, 1966; Lust, 1987; Wilen & Wilen, 1987). Mendes et al. (1990) testaram diferentes espécies do gênero *Eucalyptus*, observando sua atividade contra adultos de *Biomphalaria glabrata* e sua desova e contra cercárias de *Schistosoma mansoni*. Tal estudo revelou a ação moluscicida e cercaricida dos hidrolatos e óleos essenciais de várias espécies de eucalipto. Testes realizados com eucaliptos que têm citronelal em seu óleo, têm sido realizados contra os ácaros *Varroa jacobsoni* e *Acarapis woodi*, considerados pragas nas colméias de abelha. Tais substâncias têm causado elevada mortalidade dos ácaros e mortalidade insignificante das abelhas (Zaid et al., 1987; Calderone et al., 1991; Calderone & Spivak, 1995). Outros estudos têm avaliado a eficácia de *Eucalyptus* spp contra *Musca domestica*, *Culex fatigans* e outros insetos (Osmani et al., 1972; Kambu et al., 1982; Chavan et al., 1983; Trigg & Hill, 1996), indicando elevado potencial inseticida e repelente.

No trabalho realizado por Sujatha et al. (1988), os extratos de 3 espécies vegetais (*Acorus calamus*, *Ageratum conyzoides* e *Madhuca longifolia*) provocaram inibição significativa na emergência de adultos de mosquitos. Chungsamarnyart et al. (1991a) testaram a ação larvicida de 151 extratos de

plantas da Tailândia contra *B. microplus*, identificando 7 espécies que provocaram de 86 a 100% de mortalidade e 8 com atividade larvicida entre 71 e 86%. Chungsamarnyart et al. (1991b) também testaram a maioria dos extratos contra fêmeas de *B. microplus*, identificando 2 espécies que causaram de 92 a 100% de mortalidade 2 dias após a imersão, 3 espécies entre 71 e 85% de mortalidade e 10 espécies que provocaram entre 86 e 100% a partir do quinto dia pós imersão. Alguns trabalhos também investigam a ação de extratos de semente da pinha *Annona squamosa* contra *B. microplus*, indicando elevado potencial acaricida (Chungsamarnyart et al., 1988; Chungsamarnyart et al., 1990; Chungsamarnyart et al., 1991c). Descobriu-se que a substância Candina-4,10(15)-dien-3-ona, isolada do hortelã *Hyptis verticillata*, possui ação sobre a fertilidade dos ovos de *B. microplus*, mas não causa a morte da fêmea ingurgitada (Porter et al., 1995).

A azadiractina, substância extraída da árvore indiana *Azadirachta indica*, possui a capacidade de inibir o crescimento e a reprodução de vários insetos, agindo como um esteróide anti-muda ou afetando o controle neuroendócrino dos esteróides de muda (Sukumar et al., 1991). Os estudos realizados com extratos vegetais das folhas e com o óleo da semente, têm indicado efeitos negativos contra *B. microplus* (Williams, 1993; Maske et al., 1995-1996; Williams & Mansingh, 1996; Gupta et al., 1997; Gupta et al., 1998; Mansingh & Williams, 1998), contra mosquitos (Chavan & Nikam, 1988; Dua et al., 1995; Nagpal et al., 1995; Mordue & Nisbet, 2000) e contra nematóides gastrointestinais de bovinos (Pietrosemoli et al., 1999). Esses efeitos além de serem semelhantes aos apresentados pelos produtos químicos tradicionais, são bem menos agressivos à pele dos bovinos (Vatsya & Singh, 1997). Já Chungsamarnyart et al. (1990) obtiveram pequena ação larvicida de extratos de *A. indica* em *B. microplus*.

Os produtos químicos naturais de plantas terão certamente um papel importantíssimo no futuro do controle de pragas, em função da grande necessidade de inseticidas com novos princípios ativos e que possuam, ao mesmo tempo, a propriedade de atingirem somente espécies alvo. Muitas pesquisas têm buscado desenvolver produtos baseados em substâncias naturais, que tenham a capacidade de interferir nos processos biológicos dos artrópodos. Tudo isso demonstra uma mudança de atitude, na qual a ação imediata do produto não é tão importante. A orientação dos produtores é fundamental, para que os produtos alternativos e o controle integrado de pragas sejam amplamente utilizados e obtenham sucesso na redução de resíduos nos produtos derivados animais comercializados e no estabelecimento da resistência.

### 3) Métodos laboratoriais de avaliação de produtos químicos contra carrapatos e a utilização de solventes

Observa-se que os métodos laboratoriais têm sido aperfeiçoados ao longo do tempo, trazendo uma maior praticidade. Existem basicamente quatro tipos de testes utilizados em carrapatos: pulverização, aplicação tópica ou injeção, impregnação de resíduos em papéis de filtro e imersão. O primeiro consiste na aplicação de gotas diretamente na superfície corporal do artrópodo, sendo o líquido carreador a acetona, que pode ser bem manejada em pequenas quantidades, é amplamente disponível e tem um excelente poder como solvente. Harrison (1987) descreveu a Torre de Pulverização de Potter para tratar de larvas com precipitados tóxicos. Stone & Knowles (1973) utilizaram esse método para avaliar produtos químicos contra o carrapato *B. microplus*, sugerindo a utilização da acetona como solvente. Critica-se esse método porque dificilmente se consegue pulverizar uniformemente o inseto e os compostos são aparentemente menos

tóxicos nesse processo (Fao, 1987). O método de aplicação tópica foi desenvolvido por Kitaoka & Yajima (1961) e aperfeiçoado por Kitaoka & Morii (1963). No método de injeção injeta-se o produto dentro da fêmea ingurgitada usando-se uma micro-seringa. A utilização de determinados tipos de formulações fica impossibilitada neste método (Amaral, 1993).

A utilização de papéis de filtro impregnados consiste em forçar o contato do parasito com o papel impregnado na dose estipulada, prendendo-o na superfície tratada. Impregna-se o papel de filtro com o produto nas concentrações determinadas, dissolvendo-o em uma quantidade definida de azeite de oliva (carreador não volátil) e de tricloroetileno ou clorofórmio em uma proporção 1:2 (Fao, 1987). Critica-se este processo pelo fato das larvas ficarem em contato com a superfície tratada por 24h, sendo portanto seu efeito cumulativo e dependente do comportamento individual de cada larva, que pode variar durante esse período de tempo. Vários trabalhos utilizando impregnação de papéis de filtro foram realizados com vários estádios de carrapatos, no entanto a maioria deles possuía falhas no acondicionamento dos artrópodos e a metodologia era muito trabalhosa: Laws (1948), Busvinc & Nash (1953), Ansari et al. (1956), Hansens (1956) e Whitehead & Baker (1961). A metodologia desenvolvida por Stone & Haydock (1962) consegue confinar larvas de *B. microplus* em papéis de filtro impregnados formando um envelope vedado por "clips", com realização da leitura após 24h. O acaricida é diluído em xileno e o óleo de Risella é diluído em clorofórmio. Posteriormente este método foi adotado e recomendado para experimentos de detecção e medida de resistência de pragas da agricultura a pesticidas no Fao Plant Protection Bulletin (1971). Nele recomenda-se a utilização do azeite de oliva que seria o solvente carreador e também a utilização de um solvente volátil: tricloroetileno ou clorofórmio.

Por outro lado, a técnica de imersão sugerida inicialmente por Whitehead (1958) com larvas e fêmeas ingurgitadas de *B. decoloratus* foi aprimorada por Shaw (1966) com *B. microplus*, consistindo na imersão das larvas de carrapato por 10 minutos no produto desejado, com concentração pré-determinada. Após este período, as larvas secam em papéis de filtro e aproximadamente 100 exemplares vivos são transferidos para papéis de filtro secos e acondicionados em estufa com leitura de mortalidade após 24h. Somente Whitehead (1958) limitava o tempo de exposição das larvas ao produto, lavando-as em água destilada antes de colocá-las no envelope. Critica-se essa técnica pelo fato de ser muito trabalhosa e também alguns produtos podem não estarem disponíveis como compostos formulados. Tatchell (1974) comenta que os testes de imersão normalmente envolvem um trabalhoso manuseio das larvas e por este e outros fatores, muitas vezes encontram-se variações nos trabalhos e até mesmo alta mortalidade no controle, juntamente com uma inexplicável diminuição da mortalidade com o aumento da concentração acaricida. Cepleanu (1993) testou extratos naturais de plantas solubilizados em dimetilsulfóxido em testes de imersão de larvas de *Aedes aegypti*. Segundo a FAO, o produto a ser testado deve ser dissolvido em uma mistura de acetona e álcool, e ainda adicionado a uma pequena quantidade de água contendo um agente secante. Quando não se consegue preparar a suspensão dessa maneira, uma formulação comercial pode ser utilizada como alternativa, mas existe o risco de ocorrerem erros em função de diferenças nas formulações.

No caso de testes laboratoriais para fêmeas ingurgitadas, Stone & Haydock (1962) descrevem uma técnica de papéis impregnados por inseticidas em óleos, muito semelhante ao teste de larvas, onde 25 fêmeas ingurgitadas são acondicionadas nesses papéis por 48h. O teste mais utilizado é o desenvolvido por Drummond et al.

(1973), onde as fêmeas são coletadas dos bovinos, são lavadas, secas e divididas em grupos de dez para serem imersas nos produtos que se quer testar por 5 minutos. Após este período são secas, colocadas em placas de Petri e acondicionadas em estufas climatizadas. Aquelas que sobrevivem têm seus ovos pesados e a eclodibilidade verificada. Aconselha-se aqui a utilização de acetona a no máximo 40% ou ainda 25 partes do produto, 10 partes de Triton x-100 e 65 partes de xilol.

Com relação aos estudos realizados com solventes, Selz (1953) realizou um estudo daqueles que poderiam ser úteis para produtos de difícil solubilização. Hadway & Barlow (1958) estudaram 11 solventes diferentes e afirmam ser a toxicidade do solvente sobre o inseto o principal critério na sua escolha e que a toxicidade relativa de um inseticida depende do solvente no qual ele está dissolvido. Reed et al. (1968) observaram a diferença na ação de um acaricida quando dissolvido em acetona e álcool etílico, concluindo que o primeiro confere maior toxicidade ao acaricida. Thiele & Harrison (1968) investigaram a ação de 18 solventes diferentes no método de aplicação tópica de acaricidas.

Torrado & Gutierrez (1969) comentam sobre a importância de se trabalhar com grupos controle, que poderá invalidar o experimento caso ultrapasse o nível de 3% de mortalidade. Segundo os mesmos autores, o papel de filtro pode causar a dessecação e a morte das larvas e, no caso do papel impregnado, pode não ocorrer o equilíbrio da umidade externa com a interna, enfatizando novamente a necessidade do grupo controle. Beadles et al. (1973) também conferem grande importância ao grupo controle, já que deve-se distinguir entre o efeito do produto e o dos solventes, submergindo grupos testemunhas numa formulação composta somente pelos solventes, que às vezes têm efeitos sobre os resultados. No estudo realizado pelos mesmos autores sobre o efeito de 130 solventes na oviposição de

*Anocentor nitens*, observou-se que somente 2 deles não tinham nenhum efeito: 2-metilbutano e nitrometano. Observa-se grande necessidade de realização de estudos sobre o efeito de diferentes solventes em *B. microplus*, para o melhor conhecimento deste carrapato.

## METODOLOGIA

Ao longo do desenvolvimento do doutorado, a tese foi escrita na forma de artigos científicos. Recentemente, os três artigos foram submetidos à publicação e o artigo sobre eucaliptos recebeu o número definitivo das patentes para ser submetido, garantindo assim o direito de propriedade sobre a invenção.

Atendendo às exigências atuais de agilidade na circulação da informação, redução de custos e finalização de trabalhos através de publicações, optou-se pela apresentação da tese na forma dos artigos desenvolvidos. Estes artigos estão apresentados segundo as exigências editoriais de cada revista:

- a) Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (UFMG): **artigo 1** (A351/01);
- b) Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science (USP): **artigo 2** (comprovante com número de registro ainda não enviado);
- c) Ciência Rural (Universidade Federal de Santa Maria): **artigo 3** (360/01).

As considerações finais que constam na tese referem-se a uma conclusão geral da mesma, onde também foram colocadas reflexões, sugestões e informações referentes ao uso futuro dos resultados aqui obtidos.

A produção científica da autora, durante o período de realização do curso de doutorado, está expressa na forma de apêndice, conforme sugestão do professor orientador.



## ARTIGO 1

### Ação larvicida de derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona no carrapato *Boophilus microplus*

Larvicidal action of camphor and isopinocamphone arilsulphonyl derivatives in *Boophilus microplus* cattle tick

Ana Carolina S. Chagas<sup>1</sup> Hélio T. Prates<sup>2</sup>  
Romário C. Leite<sup>3</sup> John Furlong<sup>4</sup>

<sup>1</sup> - Doutoranda da Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Governador Valadares, 1002 - Manoel Honório, Juiz de Fora - MG, 36051-550, Brasil. (32)3226-5330

[chagasac@terra.com.br](mailto:chagasac@terra.com.br)

<sup>2</sup> - Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo;

<sup>3</sup> - Professor da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais - Orientador;

<sup>4</sup> - Pesquisador da Embrapa Gado de Leite.

#### RESUMO

Estima-se que 80% da população mundial de bovinos esteja infestada por carrapatos e os carrapaticidas têm sido o principal mecanismo de controle de *Boophilus microplus*. Resíduos de acaricidas no leite e/ou carne constituem um problema universal e de grande importância na saúde pública e atualmente o uso de produtos naturais no combate de pestes tem despertado grande interesse. Objetivou-se com o presente trabalho testar a atividade larvicida de trinta e três derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona no carrapato *B. microplus*, na busca de princípios ativos menos tóxicos para o controle desse parasito. Os produtos foram obtidos através da clorosulfonação da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona. Eles foram submetidos à solubilização e testados separadamente e em conjunto, contra larvas de carrapato encerradas em envelopes contendo papéis impregnados e

acondicionadas em estufa climatizada. A mortalidade média não ultrapassou 5% em todos os testes realizados, indicando que a clorosulfonação não é a rota de síntese mais adequada para a obtenção de derivados sintéticos com efeito larvicida sobre *B. microplus*. Os 33 produtos testados sob a forma de triagem biológica não podem ser considerados como potenciais candidatos a acaricidas.

Palavras-chave: *Boophilus microplus*, controle, derivados arilsulfonílicos, cânfora, isopinocanfona.

#### ABSTRACT

Ticks infest 80% of cattle world population and acaricides has been the principal mechanism to control *Boophilus microplus*. Acaricides residues on milk and meat are very important in the world public health. Therefore, the use of natural products to control parasites has become of great interest as an alternative for those acaricides. This work intended to investigate the acaricidal activity of camphor and isopinocamphone arilsulphonyl derivatives against *Boophilus microplus* cattle tick. This study aim to get low-residue chemicals for this parasite control. Products were obtained through the camphor and isopinocamphone clorosulfonation. Thirty-three products were submitted to solubilization and tested alone and together, against tick larvae. They were caught in filter paper envelopes impregnated with products, which were placed in incubator with controlled conditions. The mortality average did not exceed 5% in all trials what evidenced that clorosulfonation was not the adequate synthetic rote to obtain derivatives with larvicidal effect against *B. microplus*. The thirty-three products tested like biological screening could not be considered potential candidates to acaricides.

Key words: *Boophilus microplus*, control, arilsulphonyl derivatives, camphor, isopinocamphone.

## INTRODUÇÃO

Os carrapatos e as doenças causadas pelos agentes que eles transmitem encontram-se amplamente distribuídos, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Estima-se que 80% da população mundial de bovinos esteja infestada por carrapatos (Pegram et al., 1993). Os carrapaticidas têm sido o principal mecanismo de controle, particularmente de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). Os primeiros carrapaticidas foram os arsênicos (1949), depois os clorados (Toxafeno o mais usado, DDT, BHC - 1952), os fosforados (décadas de 50 e 60), as amidinas (formamidinas, tiouréias e ditioctanos - década de 70), os piretróides (década de 80) e por último os quimioterápicos com ação inseticida (Furlong, 1993).

Segundo Uilenberg (1996), inseticidas e acaricidas provocam um certo grau de poluição ambiental, sendo prejudiciais à vida aquática. Inseticidas usados contra a mosca tsé-tsé *Glossina* spp., produzem efeitos temporários, entretanto, há inseticidas utilizados em culturas que tem propriedades físico-químicas que os tornam mais prejudiciais. Resíduos de acaricidas no leite e/ou carne, constituem um problema universal e de grande importância na saúde pública, sendo que a sua presença provoca problemas na comercialização dos produtos. Pesticidas têm sido usados extensivamente na indústria e na agricultura em todo o mundo nas últimas décadas. Segundo o estudo de Spicer & Kereu (1993) realizado com mulheres lactantes em Nova Guiné, 100% delas apresentaram DDT em suas glândulas mamárias e 10% delas possuíam índices acima do permitido para o leite de vaca. Segundo Hernández et al. (1993) em seu trabalho sobre resíduos de inseticidas na glândula mamária humana em Madri (Espanha), o leite seria a rota mais importante para a excreção desse tipo de composto na mulher.

Dessa maneira, alternativas ao controle químico do carrapato têm despertado bastante interesse. Através do estudo de Prates et al. (1993), observou-se que o óleo essencial do capim-gordura (*Melinis minutiflora*) provoca a mortalidade de 100% das larvas do carrapato *B. microplus* em apenas 10 minutos, em condições de laboratório. Em estudos posteriores, Prates et al. (1998) detectaram a presença de dois componentes desse óleo que são ainda mais eficientes ao matar as larvas em 5 minutos: 1,8-cincol e hexanal. A atividade larvicida dos monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno presentes no óleo essencial da leguminosa *Stylosanthes* é bem conhecida em função dos vários trabalhos realizados (Sutherst et al., 1982; Sutherst & Wilson, 1986; Prates et al., 1993; Prates et al., 1998). A (+)-cânfora (análogo estrutural do  $\alpha$ -pineno), presente em algumas plantas como o *Cinnamomum camphora*, tem tido ação biocida segundo Goulding et al. (1982) e Goulding et al. (1983). Prates (1992) modificou o  $\alpha$ -pineno, em função de seu caráter volátil, para a (+)-isopinocanfona e promoveu sua síntese, assim como a de seu análogo estrutural (+)-cânfora, produzindo 43 produtos derivados através da técnica de clorossulfonação.

Os produtos naturais podem ser de potencial interesse no combate de pestes de várias maneiras. Primeiro, porque devido à diversidade de tipos estruturais, constituem uma fonte rica de compostos modelos para programas convencionais de triagem ("screening"). Segundo, porque o conhecimento sobre a atividade biológica de um produto natural, revelada por um programa de triagem, pode levar à sua aplicação no manejo de pragas através de aplicação direta do próprio produto natural ou de produtos resultantes de modificações estruturais. Terceiro, porque o conhecimento e a compreensão da função de um produto químico na natureza pode levar a novas estratégias importantes no manejo de pragas (Plimmer, 1992).

O presente trabalho teve como objetivo testar a atividade acaricida de derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona no carrapato *B. microplus*, na busca de princípios ativos menos tóxicos para o controle desse parasito.

## MATERIAL E MÉTODOS

A técnica da clorossulfonação utilizada na síntese dos derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona está descrita em Prates (1992).

As fêmeas ingurgitadas de cepa sensível Porto Alegre foram provenientes de colônia de *B. microplus* da Estação Experimental de Coronel Pacheco, da Embrapa Gado de Leite, na Zona da Mata de Minas Gerais, que foi mantida e renovada periodicamente com a produção quinzenal de teleóginas, mantidas em estufa climatizada ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$  e UR > 80%), que produziram massas de ovos e conseqüentemente larvas. Para os testes foram utilizadas larvas com 14 a 21 dias de idade após a eclosão.

Como os produtos existiam em pequenas quantidades (Tab. 1), optou-se por utilizá-los da maneira mais econômica possível. Assim cerca de 10 mg dos produtos foram colocados em tubos de centrífuga Eppendorf e submetidos à solubilização com diferentes solventes (800 $\mu\text{L}$ ), utilizando-se um agitador de tubos Marconi-162. A acetona e o acetato de etila foram escolhidos para solubilizar separadamente os produtos em função de seu grande potencial de solubilização. No entanto, como eram solventes muito voláteis, todo o experimento foi repetido utilizando-se também a mistura triton (50 $\mu\text{L}$ ) + álcool etílico (250 $\mu\text{L}$ ) + água (500 $\mu\text{L}$ ), que apesar de deixar os produtos em suspensão, permitiram que o contato dos produtos com a cutícula das larvas se estendesse por 4 h. Como cada um dos

produtos foi testado separadamente, optou-se também por testá-los em conjunto, utilizando-se os solventes supracitados, para avaliação da existência de algum efeito sinérgico.

Para observar se os solventes escolhidos possuíam algum efeito larvicida, utilizou-se a metodologia preconizada pela Organização Mundial para a Alimentação e a Agricultura das Nações Unidas (Fao Plant Protection Bulletin, 1971), onde papéis de filtro da marca JP 41- 0,007 foram impregnados pelos solventes. Foram feitas duas repetições e o controle foi realizado utilizando-se água.

Os 33 produtos (Tab. 1) foram solubilizados com os solventes pré-determinados a uma concentração bastante elevada de 20.000  $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$  e colocados em contato com as larvas para detecção da ação. Aqueles que provocassem efeito nessa concentração, seriam então submetidos a mais quatro concentrações diferentes, para possível detecção da DL<sub>50</sub>, utilizando-se o programa Probit.

Os produtos foram testados utilizando-se a técnica adaptada por Leite (1988), onde aproximadamente 100 larvas foram colocadas entre papéis de filtro de 2 x 2 cm impregnados pelos produtos, formando um "sanduíche" e acondicionados em estufa climatizada, com leitura após 24 h. Os experimentos tiveram duas repetições e os controles se constituíram apenas dos solventes. Foram utilizados para as duas repetições, 16mg de cada produto que foram solubilizados em 800  $\mu\text{L}$  dos solventes em um agitador para tubos, sendo posteriormente colocados sobre os papéis de filtro através de pipetas plásticas descartáveis de 5 mL.

Não foi necessária a contagem das larvas quando todas elas estavam vivas (0% de mortalidade). A contagem de larvas foi iniciada por aquelas consideradas vivas, ou seja, capazes de locomoverem-se. Em caso de dúvida, essas larvas foram estimuladas com pincel ou com CO<sub>2</sub>. As demais larvas foram consideradas mortas.

A mortalidade foi calculada da seguinte forma:

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

$$\text{Mort. média (\%)} = \frac{\text{mort. da repetição 1} + \text{mort. da repetição 2}}{2}$$

## RESULTADOS

A acetona e o acetato de etila demonstraram provocar mortalidade média mínima: 0,7 e 0,9 % respectivamente. Já a mistura de triton provocou mortalidade média de 2,8%. A acetona solubilizou os produtos 4, 6, 8, 11, 12, 21, 22, 24, 28 e 32, enquanto que o acetato de etila demonstrou ser mais eficiente para os produtos 1,2, 3, 5, 7, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 31 e 33.

A sobrevivência das larvas submetidas aos 33 produtos solubilizados com acetona e acetato de etila variou entre 95,1 e 100%. Quando as larvas submetidas a algum produto pareciam lentas, fazia-se a leitura 48h depois, mas mesmo assim não ocorreu mortalidade significativa (Tab. 2).

Os papéis de filtro impregnados com os produtos solubilizados em acetato de etila e acetona secavam em aproximadamente 10 minutos. Apesar desse tempo ser maior (4h) quando se utilizou a mistura de triton como solvente, a mortalidade média continuou sendo entre 0 e 5%. Os testes realizados com todos os produtos em conjunto, na tentativa de se observar algum efeito sinérgico entre os mesmos, também resultaram em uma taxa de mortalidade que não ultrapassou 5%.

## DISCUSSÃO

Em função da mortalidade de 100% das larvas de *B. microplus* causada pelo  $\alpha$ -pineno, detectada por Prates et al. (1993) esperava-se que os derivados sintetizados a partir da (+)-isopinocanfona (composto modificado estruturalmente a partir do  $\alpha$ -pineno) e de seu análogo estrutural, a (+)-

cânfora, tivessem efeito semelhante. Segundo Prates (1992), esperava-se que a conversão do  $\alpha$ -pineno em (+)-isopinocanfona pudesse potencializar sua atividade, o que não foi visualizado no presente trabalho. Assim, observou-se que todos os derivados obtidos a partir da técnica de clorossulfonação não foram eficientes quanto ao seu efeito larvicida. Tais resultados, no entanto, não permitem a suposição de que o  $\alpha$ -pineno não seja um dos responsáveis pela ação acaricida observada em *Stylosanthes* sp., pois vários trabalhos indicam claramente sua eficiência. No trabalho de Prates et al. (1993), o  $\alpha$ -pineno puro causou mortalidade de 100% das larvas de *B. microplus* em apenas 10 minutos de exposição, enquanto que a mesma substância em solução de azeite de oliva levou 24h para ter o mesmo efeito. Esses mesmos resultados foram obtidos em Prates et al. (1998). No trabalho de Sutherst et al. (1982), obteve-se um índice de 94% de mortalidade larval, para larvas expostas ao vapor das secreções de *Stylosanthes*. Observou-se que o efeito tóxico apresentado por essa forrageira se deve a uma mistura dos terpenos  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno (Sutherst & Wilson, 1986). No mesmo trabalho de Prates et al. (1998) a (+)-cânfora levou 60 minutos para causar mortalidade de 100% das larvas de *B. microplus*, enquanto a (+)-isopinocanfona precisou de 45 minutos de contato com as mesmas. Segundo Wright (1975), o mecanismo de ação da cânfora no caso dos mosquitos já é conhecido, causando o bloqueio dos receptores olfatórios dos insetos. Klocke et al. (1987) comentam que o 1,8-cineol parece ter o mesmo modo de ação, assim como todos os terpenóides voláteis que possuem um odor semelhante ao da cânfora.

Goulding et al. (1982) estudaram os efeitos negativos dos derivados sulfonílicos dos policlorobenzenos e dos difenil éteres contra duas espécies de algas. Da mesma forma, Goulding et al. (1983) detectaram ação fungicida em alguns dos 53 derivados sulfonílicos do isoxazol, pirazol, tiazol e

tiofeno. Dessa maneira, observa-se que derivados sulfonílicos de vários compostos têm demonstrado possuir ação biocida quando submetidos a testes de triagem contra vários organismos.

Prates et al. (1998) sugerem que os produtos testados poderiam dar origem a inseticidas ecologicamente mais seguros, ou sob a forma de formulação adequada, ou ainda sob transformação química. Segundo os resultados do presente trabalho, a rota de síntese utilizando clorossulfonação para obtenção de derivados sintéticos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona indicou não ser a mais adequada para aumentar o efeito larvicida dessas substâncias contra *B. microplus*. Dessa maneira, as 33 substâncias obtidas a partir dessa rota de síntese e testadas sob a forma de "screening" biológico não podem ser consideradas como potenciais candidatas a acaricidas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. *J. Econ. Ent.*, v. 18, p. 265-267, 1925.
- FAO PLANT PROTECTION BULLETIN. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides: tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. *FAO method n.º 7*, v. 19, p. 15-18, 1971.
- GOULDING, K.H., CRONJE, T., CREMLYN, J. W. The algacidal activities of some sulphonyl derivatives of polychlorobenzenes and diphenyl ethers. *Pesticide Sci.*, v. 13, p. 23-28, 1982.
- GOULDING, K. H., YUNG, K. M. HALL, A. M., CREMLYN, J. W. The antifungal activity of some sulphonyl derivatives of isoxazole, pyrazole, thiazole and thiophene. *Pesticide Sci.*, v. 14, p. 158-166, 1983.
- HERNÁNDEZ, L.M., FERNÁNDEZ, M.A. HOYAS, E. GONZÁLEZ, M.J., GARCIA, J.F. Organochlorine insecticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast milk in Madrid (Spain). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 50, p. 308-315, 1993.
- FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região sudeste do Brasil. *Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG*, v. 8, p. 49-61, 1993.
- KLOCKE, J.A., DARLINGTON, M.V., BALANDRIN, M.F. 1,8-Cineole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.*, v. 13, n. 12, p. 2131-2141, 1987.
- LEITE, R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1988. 151p. (Tese, Doutorado).
- PLIMMER, J.R. Role of natural product chemistry. In: PRATES, H.T. *Do estudo químico-biológico da ação carrapaticida do capim gordura (Melinis minutiflora Beauv.) ao planejamento e síntese de derivados arilsulfonílicos, potencialmente biocidas, a partir de cetonas monoterpênicas abundantes.* Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1992. 279p. (Tese, Doutorado).
- PRATES, H.T. *Do estudo químico-biológico da ação carrapaticida do capim gordura (Melinis minutiflora Beauv.) ao planejamento e síntese de derivados arilsulfonílicos, potencialmente biocidas, a partir de cetonas monoterpênicas abundantes.* Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1992. 151p. (Tese, Doutorado).

- PRATES, H.T., OLIVEIRA, A.B., LEITE, R.C., CRAVEIRO, A.A. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v. 28, n. 5, p. 621-625, 1993.
- PRATES, H.T., LEITE, R.C., CRAVEIRO, A.A., OLIVEIRA, A.B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 9, n. 2, p. 193-197, 1998.
- PEGRAM, R.G., TATCHELL, R.J., CASTRO, J.J., CHIZYUKA, H.G.B., CREEK, M.J., McCOSKER, P.J., MORAN, M.C., NIGARURA, G. Tick control: new concepts. *World Anim. Rev.*, v. 74-75, p. 2-11, 1993.
- SPICER, P.E., KEREU, R.K. Organochlorine insecticide residues in human breast milk: a survey of lactating mothers from a remote area in Papua New Guinea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 50, p.540-546, 1993.
- SUTHERST, R.W., JONES, R. J., SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. *Nature*, v. 295, n. 28, p. 320-321, 1982.
- SUTHERST, R.W., WILSON, L.J. Tropical legumes and their ability to immobilize and kill cattle ticks. In: *Insects and the Pant Surface*. Eds B. E. Juniper and T. R. E. Southwood, London: Edward Arnold Ltd., 1986. p.185-194.
- UILENBERG, G. Integrated control of tropical animal parasitoses. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, v. 28, p. 257-265, 1996.
- WRIGHT, R.H. Why mosquito repellents repel. *Sci. Anim.*, v. 233, n. 1, p. 104-111, 1975.

Tabla 1 – Quantidade disponível e identificação dos 33 derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona testados quanto à ação larvídica contra *B. microplus*.

N.º	Peso g	Produtos
1	2,000	Cânfora-3 – (3' – benzilaminossulfonil – 4' - metoxi) benzilideno
2	0,973	Cânfora-3 – (4 – pirrolidinossulfonil) benzilideno
3	0,081	Cânfora-3 – (3' - (2'', 6'' – dimetilmorfolinossulfonil) – 4' - metoxi) benzilideno
4	0,162	Cânfora-3 – (5' - (2'', 6'' – dimetilmorfolinossulfonil) – 2' - tiofenometilideno
5	0,109	Idem 3
6	0,128	Idem 8
7	0,063	Idem 4
8	0,091	Cânfora-3 – (4' – N, N – dietilaminossulfonil) benzilideno
9	0,214	Idem ao 13
10	0,126	Cânfora-3 – (3' – benzilidenossulfonamida
11	0,130	Cânfora-3 – (4' aminossulfonil) benzilideno
12	0,214	Cânfora-3 – (p – clorossulfonil) benzilideno
13	0,100	Cânfora-3 – (4'', 6' – diclorossulfonil – 3' - metoxibenzilideno
14	0,114	Cânfora-3 – (o - metoxibenzilideno)
15	0,149	Idem 14
16	0,076	Idem 10
17	0,055	Cânfora-3 – (5' - anilinossulfonil) - 2' – tiofenometilideno
18	0,104	Idem 10
19	0,048	Idem 17
20	0,085	Idem 17
21	0,124	Cânfora-3 – (5' – N, N – dietilaminossulfonil) - 2' – tiofenometilideno
22	0,056	Idem 11
23	0,100	Idem 4
24	0,155	Idem 11
25	0,090	(-) – isopinocanfcol
26	0,204	Isopinocanfona – 4 - (p – clorossulfonil) benzilideno
27	0,093	Idem 26
28	0,190	Idem 26
29	0,129	Idem 25
30	0,142	Isopinocanfona – 4 - (4' – dietilaminossulfonil) benzilideno
31	0,061	Isopinocanfona – 4 - (4' – aminossulfonil) benzilideno
32	0,083	Idem 31
33	0,068	Idem 25

\* Derivados arilsulfonílicos da cânfora (1 a 24) e da isopinocanfona (25 a 33). Os produtos identificados como “idem n.º” são intermediários que sofreram reação com bases diferentes, resultando em produtos finais diferentes uns dos outros.

Tabela 2 – Mortalidade média das larvas de *B. microplus* frente aos 33 derivados arilsulfônicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona solubilizados com acetona e acetato de etila.

Produto	Mortalidade média %	Produto	Mortalidade média %	Produto	Mortalidade média %
<b>controle</b>	1.2	<b>controle</b>	0.8	<b>controle</b>	0.0
<b>1</b>	2.4	<b>12</b>	3.4	<b>23</b>	0.0
<b>2</b>	2.7	<b>13</b>	1.3	<b>24</b>	1.0
<b>3</b>	0.0	<b>14</b>	4.9	<b>25</b>	0.6
<b>4</b>	1.2	<b>15</b>	0.0	<b>26</b>	1.1
<b>5</b>	1.2	<b>16</b>	0.9	<b>27</b>	0.7
<b>6</b>	0.0	<b>17</b>	1.7	<b>28</b>	0.4
<b>7</b>	0.6	<b>18</b>	0.5	<b>29</b>	0.6
<b>8</b>	0.6	<b>19</b>	0.9	<b>30</b>	0.0
<b>9</b>	1.1	<b>20</b>	0.0	<b>31</b>	0.6
<b>10</b>	1.0	<b>21</b>	0.8	<b>32</b>	1.1
<b>11</b>	0.9	<b>22</b>	0.0	<b>33</b>	2.6



## ARTIGO 2

### Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis

Acaricide effect of *Eucalyptus* in *Boophilus microplus*: essential oils and concentrated emulsion

Ana Carolina S. Chagas<sup>1</sup>, Wanderley Mascarenhas Passos<sup>2</sup>, Hélio T. Prates<sup>3</sup>, Romário Cerqueira Leite<sup>4</sup>, John Furlong<sup>5</sup> & Isabel Cristina Pereira Fortes<sup>6</sup>

- <sup>1</sup> - Doutoranda da Universidade Federal de Minas Gerais. Autor para correspondência: Av. Governador Valadares, 1002 - Manoel Honório, Juiz de Fora - MG, 36051-550, Brasil. (32)3226-5330  
[chagasac@terra.com.br](mailto:chagasac@terra.com.br);
- <sup>2</sup> - Professor do Curso de Controle de Vetores da Fiocruz e Pesquisador do PSI/Embrapa/UFRRJ;
- <sup>3</sup> - Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo;
- <sup>4</sup> - Professor orientador da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais;
- <sup>5</sup> - Pesquisador da Embrapa Gado de Leite;
- <sup>6</sup> - Professora do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

## INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da resistência contra drogas antiparasitárias, a indústria tem hesitado em investir na pesquisa de novos defensivos químicos. O tempo de comercialização de um novo produto é de difícil cálculo, mas certamente limitado em função da rápida aquisição de resistência<sup>34</sup>. A resistência que se desenvolveu no carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) se tornou um dos principais problemas da bovinocultura brasileira, já que ele é responsável por grandes perdas econômicas e pela transmissão de hemoparasitos causadores da "tristeza parasitária". A utilização de muitos dos

inseticidas atuais afeta o meio ambiente e outros organismos, fazendo com que se busque alternativas urgentes para os produtos químicos comerciais<sup>14</sup>.

Os metabólitos secundários de plantas têm sido utilizados como pesticidas ou modelos para pesticidas sintéticos, como o toxafeno, as piretrinas, a nicotina e a rotenona<sup>2,13</sup>. Os monoterpenos são metabólitos secundários que podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos herbívoros<sup>5</sup>. No entanto, a maioria dos monoterpenos são pouco tóxicos (dentro das primeiras 72h depois da aplicação) para os mamíferos<sup>28, 17</sup>. Alguns monoterpenos têm sido considerados alternativas potenciais aos inseticidas comerciais sintéticos, já que geralmente são reconhecidos como seguros pela US Food and Drug Administration, sendo utilizados em muitos produtos de uso humano: condimentos artificiais, na produção de perfumes<sup>32</sup> e em inúmeras formulações de expectorantes, descongestionantes, analgésicos externos e anti-sépticos<sup>17, 36</sup>.

Segundo PRATES *et al.*<sup>25</sup>, o monoterpeno 1,8-cineol está presente no óleo essencial do capim-gordura a uma concentração de 10,6% e esse monoterpeno matou 100% das larvas do carrapato *B. microplus* em 5 minutos. O efeito inseticida do 1,8-cineol também já foi confirmado para a broca *Rhyzopertha dominica* (F.) e para o besouro *Tribolium castaneum* (Herbst), causadores de grandes perdas econômicas na estocagem de cereais<sup>26</sup>. Segundo os mesmos autores, o 1,8-cineol ou eucaliptol é um produto natural produzido no metabolismo secundário de plantas e é um constituinte também do óleo essencial das folhas de várias espécies de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae). A concentração dessa substância nas folhas de eucalipto pode ser bem maior que a presente no capim-gordura, variando bastante com a espécie: *Eucalyptus citriodora* (55%), *E. globulus* (71%), *E.*

*punctata* (66%), *E. maculata* (51%), *E. maidessii* (70%), *E. smithii* (84%) e outros<sup>8</sup>.

No Brasil as principais espécies de eucaliptos que têm seus óleos essenciais comercializados são *E. citriodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana*. Assim, objetivou-se com este trabalho pesquisar a ação biocida destas espécies sobre o carrapato *B. microplis*, buscando-se um produto que pudesse ser manipulado para a produção de um acaricida menos agressivo ao meio ambiente.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1) SENSIBILIDADE LARVAL

Os óleos essenciais de *E. citriodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana* foram adquiridos comercialmente e testados utilizando-se a técnica adaptada por LEITE<sup>10</sup>, onde aproximadamente 100 larvas foram colocadas entre papéis de filtro de 2 x 2 cm recém impregnados pelos óleos, que formaram um "sanduíche", o qual foi colocado em um envelope também de papel de filtro, vedado por pregadores de plástico<sup>16</sup>. Os envelopes ficaram em estufa climatizada ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$  e UR > 80%) e as leituras foram feitas após 24h, separando-se as larvas vivas das mortas utilizando-se uma bomba à vácuo com uma pipeta adaptada na ponta.

Os óleos foram testados em 5 concentrações diferentes (1, 5, 10, 20 e 30%) e foram solubilizados e diluídos em álcool metílico, sendo o controle constituído pela mesma substância. Todos os testes foram realizados com duas repetições. Foram utilizadas somente larvas com 14 a 21 dias de idade, oriundas de fêmeas ingurgitadas enviadas por proprietários de bovinos para a Embrapa Gado de Leite, com a finalidade de se fazer o teste de detecção de resistência a carrapaticidas comerciais. As fêmeas que sobravam eram então utilizadas no experimento para a produção de larvas.

Cálculo da mortalidade:

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

$$\text{Mort. média (\%)} = \frac{\text{mort. da repetição 1} + \text{mort. da repetição 2}}{2}$$

Não foram incluídos testes que produziram resultados com mortalidade no grupo controle superior a 10%. Nos testes com mortalidade no grupo controle entre 5 e 10%, cada mortalidade média foi corrigida aplicando-se a fórmula de ABBOTT<sup>1</sup>. Não foram feitas correções quando a mortalidade do controle foi entre 0 e 5% e a mortalidade do teste foi de 0 ou 100%.

### 2) SENSIBILIDADE DAS FÊMEAS INGURGITADAS

A metodologia usada foi semelhante à descrita por DRUMMOND *et al.*<sup>12</sup>, na qual fêmeas ingurgitadas foram pesadas em grupos de 10 e cada grupo foi submetido à imersão por 5 minutos em soluções de óleo essencial de eucalipto em 5 concentrações diferentes, tendo-se como solvente o álcool metílico e o grupo controle formado somente por esta substância. Os grupos foram colocados em estufa climatizada, os ovos foram pesados e a eclodibilidade verificada visualmente. Esse teste teve duas repetições. A porcentagem de controle ou de eficácia foi calculada<sup>12</sup>.

### 3) TESTES REALIZADOS COM OS CONCENTRADOS EMULSIONÁVEIS

Os óleos essenciais que demonstraram uma eficiência geral melhor (*E. globulus* e *E. staigeriana*) foram transformados em concentrados emulsionáveis (Patentes definitivas número PI0105955-6 e PI0105956-4 respectivamente). O primeiro concentrado é composto por 90% de óleo de eucalipto e 10% de tensoativos, tendo sido testado em 5 concentrações contra larvas e fêmeas utilizando-se as metodologias supracitadas.

O grupo controle foi composto por água. Nos testes com larvas, as leituras foram feitas após 48h, pois com 24h elas ainda estavam molhadas e imóveis. A ação desse concentrado emulsionável sobre fêmeas foi pequena e assim produziu-se um segundo concentrado para ser testado contra este estágio: 25% do óleo, 65% de xilol e 10% dos mesmos tensoativos. Tal formulação é semelhante à da maioria dos carrapaticidas comerciais, tanto com relação ao solvente, quanto às concentrações. Utilizou-se um tensoativo não-iônico (6,5% de nonil fenol etoxilado com 10 moles de óxido de etileno) e um aniônico (3,5% de éster cálcico do ácido fenil sulfônico). Os resultados foram submetidos à análise utilizando-se o procedimento Probit do Programa SAS<sup>29</sup>.

#### 4) ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG/MS

A identificação da composição química dos óleos essenciais foi feita através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. As análises foram realizadas em equipamento CG/EM modelo HP5890 série II/HP5989A, no modo de IE (impacto eletrônico) usando-se uma coluna capilar de sílica fundida (25m x0,25mm; df= 0,33µm, HP5), tendo como fase estacionária o fenildimetil siloxano. Utilizou-se hélio como gás de arraste a um fluxo de 0,800 mL/min. Aliquotas de 1 µL das amostras foram injetadas no modo split, com razão de divisão 1:100, com fonte de ionização a 70 eV. As condições de operação do equipamento foram as seguintes: temperatura do injetor: 250 °C, temperatura inicial: 60 °C, temperatura final: 220 °C, tempo final: 2 min, taxa de aquecimento: 4 °C/ min, temperatura da interface: 250 °C, temperatura da fonte de ionização: 250 °C, temperatura do quadrupolo: 100 °C, varredura: 45 a 550 daltons.

O espectro de cada constituinte da amostra é comparado com cada um dos espectros armazenados no banco de dados

do computador. Após esta comparação, o "software" faz uma lista tríplice de compostos com sua respectiva probabilidade de ser ou não um determinado composto. Se  $p > 90\%$ , existe uma grande probabilidade de ser este o composto identificado. O banco de dados é limitado e em alguns casos ele indica quais seriam os prováveis constituintes, por aproximação.

### RESULTADOS

Constatou-se que o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *E. staigeriana* matam 100% das larvas (eficácia máxima) a uma concentração de 10% e *E. globulus* a 20% (Tab. 1). No caso das fêmeas ingurgitadas, o óleo essencial de *E. citriodora* teve eficácia máxima a 25%, *E. globulus* a 10% e *E. staigeriana* a 15% (Tab. 2). De uma maneira geral, o óleo essencial de *E. citriodora* teve eficácia máxima a uma concentração média de 17,5% (10 e 25%), *E. globulus* a 15% (20 e 10%) e *E. staigeriana* a 12,5% (10 e 15%).

O primeiro concentrado emulsionável produzido (90% de óleo em sua composição) causou mortalidade de 100% das larvas a uma concentração de 7,3% para *E. globulus* e de 1,6% para *E. staigeriana* (Tab. 1). Para as fêmeas ingurgitadas no entanto, obteve-se eficácia máxima a uma concentração de 40%. Já o segundo concentrado produzido (25% de óleo em sua composição) teve eficácia máxima sobre as fêmeas a uma concentração de 12,5% para *E. globulus* e de 6,2% para *E. staigeriana* (Tab. 2). A concentração média dos concentrados emulsionáveis de *E. globulus* (compostos por 90 e 25% de óleo essencial) com eficácia de 100% foi de 9,9% e de *E. staigeriana* de 3,9%. Utilizando-se os resultados obtidos, foi possível estabelecer valores estimados para os concentrados emulsionáveis, demonstrando sua eficácia sobre larvas e fêmeas ingurgitadas (Fig. 1 e 2).

As análises dos óleos essenciais feitas por cromatografia gasosa acoplada à

espectrometria de massas indicaram os prováveis constituintes e as suas concentrações nas três espécies:

*E. citriodora*: citronelal (94.9%), acetato de citronelila (2.61%) e trans-cariofileno (2.49%).

*E. globulus*: alfa-pineno (9.93%), beta-pineno (0.88%), beta-mirceno (1.23%), 1-felandreno (0.56%), 1,8-cineol (85.84%), gama-terpineno (1.24%) e alfa-terpinoleno (0.32%).

*E. staigeriana*: alfa-tujeno (0.37%), alfa-pineno (3.37%), beta-pineno (2.30%), beta-mirceno (0.97%), 1-felandreno (3.32%), alfa-terpineno (0.20%), 1-metil-2-(1-metiletil) benzeno (1.12%), *dl*-limoneno (24.78%), trans-ocimeno (0.49%), gama-terpineno (2.36%), **1-metil-2-(2-propenil) benzeno** (0.17%), alfa-terpinoleno (10.78%), citronelal (1.64%), **pulegona** (0.47%), **(2-metilenobutil) ciclopropano** (0.90%), 4-metil-1-(1-metiletil) ciclohexen-1-ol (1.16%), 1-alfa-terpinol (0.98%), Z-citral (11.36%), 3-metil-6-(1-metiletil)-2-ciclohexen-1-ona (0.13%), *E*-citral (14.99%), ácido 2, 6-octadienoico-3,7-dimetil-metil ester (5.45%), propionato de citronelila (0.75%), acetato de nerila (3.20%), acetato geranila (7.61%), nerolidol (0.34%) e **germacreno B** (0.79%).

As substâncias em negrito foram identificadas por aproximação, já que apresentaram probabilidade menor que 90%.

## DISCUSSÃO

A mortalidade causada pelos óleos essenciais das espécies de *Eucalyptus* já era esperada, em função da presença de substâncias de comprovado efeito inseticida nos mesmos. Chungsamarnyart; Jiwajinda<sup>10</sup> estudaram destilados das folhas de *Cymbopogon citratus* ou capim-limão (rico em citral) e de *Cymbopogon nardus* ou capim-citronela (rico em citronelal), observando que ambos causam a morte da fêmea ingurgitada de *B. microplus in vivo*. Calderone *et al.*<sup>7</sup> observaram que uma mistura de timol com citronelal foi a mais

ativa contra o ácaro *Varroa jacobsoni*. Segundo os mesmos autores o citronelal é o principal componente do produto italiano Apilife/VAR, utilizado no controle de ácaros de colméias de abelhas. Verissimo; Piglione<sup>35</sup> detectaram em seu trabalho que as larvas de *B. microplus* são repelidas pela essência natural de citronelal. A partir da cromatografia, observa-se que o constituinte majoritário do óleo essencial do *E. citriodora* é o citronelal, justificando assim a mortalidade detectada no presente trabalho.

Prates *et al.*<sup>24</sup> detectaram que *E. globulus* é eficaz para 76% das pragas de grãos armazenados até a dose de 2:8 (óleo essencial:acetona). Em Prates *et al.*<sup>27</sup>, *E. cameronii* causou mortalidade de 55% em *Sitophilus zeamais*, 45% em *S. oryzae*, 100% em *R. dominica* e 42% em *T. castaneum*. As duas espécies de *Eucalyptus* supracitadas são ricas em 1,8-cineol (71% e 57% respectivamente), sendo a primeira a principal fonte desta substância para a comercialização. A análise por CG/EM mostra a ausência de 1,8-cineol em *E. citriodora*, mas sabe-se que a composição e a concentração das substâncias nesses óleos podem variar bastante, de acordo com o local de estudo, com a estação do ano e com a idade das folhas<sup>4, 20, 21</sup>.

*E. citriodora*, *E. staigeriana* e *E. macarthuri* são fontes de óleos essenciais destinados à perfumaria, sendo o primeiro a principal espécie comercializada contendo cerca de 80% de citronelal e o segundo, rico em acetato de geranila (60 a 70%)<sup>31, 37</sup>. No entanto, de acordo com análise por GC/EM, o óleo essencial de *E. staigeriana* é composto por 26 substâncias diferentes e o acetato de geranila está presente somente a 7,61%. Ao mesmo tempo, observa-se que outros constituintes desse óleo possuem efeitos inseticidas conhecidos, tais como o citral<sup>10</sup>, alfa-pineno e beta-pineno<sup>25</sup>, terpineno e terpineol<sup>6</sup> e ainda o *dl*-limoneno<sup>9, 33</sup>.

Através das tabelas, observa-se que os óleos essenciais foram potencializados quando transformados em concentrados

emulsionáveis, principalmente para larvas. Para um bioativo funcionar, ele precisa ser hidrofílico e lipolítico para ser absorvido, pois todos os artrópodos têm esses dois meios de absorção<sup>22</sup>. Quando um produto como um óleo natural está muito concentrado, ocorre o fenômeno físico chamado apassivação, onde o produto é inicialmente absorvido, mas depois forma um filme apassivador, barrando a passagem do óleo. Quando ele está mais diluído, este filme não se forma e a penetração ocorre mais lentamente, porém de maneira muito mais devastadora. O óleo puro de eucalipto é somente lipolítico possuindo assim menor absorção. Como concentrado emulsionável, tornou-se lipolítico e hidrofílico, sofrendo um equilíbrio eletrônico através de dois tensoativos. Estes reduzem o tamanho das partículas do óleo e modificam as forças entre as moléculas da água, permitindo que as moléculas dos monoterpenos penetrem facilmente na água, formando o concentrado emulsionável. Este é mais agressivo que o óleo, pois as partículas estão menores, tornando-se mais biodisponíveis para penetrar e agir sobre *B. microplus* (W. M. Passos, Com. Pes., 2001). Os concentrados emulsionáveis contendo 25% de óleo foram mais eficazes contra as fêmeas em função da presença de um solvente, que amplia a área de ação do produto, distribuindo os bioativos homogeneamente na cutícula. Com relação às figuras 1 e 2, observa-se que através da análise do programa Probit, os concentrados contendo 90% do óleo têm uma variação maior na eficácia ao longo das concentrações, mas ao mesmo tempo agem em concentrações menores nas larvas. Já os concentrados com 25% de óleo, têm sua ação mais homogênea, mas produzem eficácia máxima sobre as fêmeas ingurgitadas somente em concentrações maiores.

Atualmente existe o produto AV/EPP/14 (Dabur Ayurved Ltd.), constituído de *Cedrus deodara* 2 g, *Pongamia glabra* 0,5 g, *Azadirachta indica* 0,3 g, *Eucalyptus globulus* 0,2 g e *Acorus*

*calamus* 0,2g. Ele tem controlado piolhos (*Trichodectes canis*) e pulgas de cães (*Ctenocephalides felis*)<sup>3</sup>, carrapatos de cães (*Rhipicephalus sanguineus*)<sup>23,30</sup>, carrapatos de bovinos (*B. microplus*) e piolhos de búfalos (*Haematopinus tuberculatus*)<sup>18</sup>. Tais trabalhos indicam a tendência de substituição dos acaricidas sintéticos por produtos de menor impacto. No entanto, observa-se que o AV/EPP/14 é um produto com baixa concentração de ativos e por isso é utilizado em altíssima concentração (1:4), o que não acontece com os concentrados emulsionáveis à base de *Eucalyptus* do presente trabalho (alta concentração de ativos na fórmula, controle em baixas concentrações).

Nenhum gênero foi tão largamente plantado no mundo como o *Eucalyptus*. Estima-se que existam seis milhões de hectares plantados, dos quais a metade está no Brasil, representado mais da metade de toda a área reflorestada do país<sup>15</sup>. Das mais de 600 espécies e variedades de *Eucalyptus* existentes, somente vinte têm sido exploradas comercialmente e menos de doze têm importância econômica no mercado mundial de óleos essenciais<sup>31</sup>. Os estudos nessa linha continuam com o desenvolvimento de um concentrado emulsionável do óleo essencial de *E. citriodora* (Patente número PI0105957-2), assim como serão iniciados os estudos a campo. Existe também a expectativa de se testar esses concentrados contra outros ectoparasitos e até endoparasitos, desenvolvendo-se produtos que possam ser comercializados a preços competitivos. Segundo Chungsamarnyart *et al.*<sup>11</sup>, acaricidas originados de plantas tendem a ter baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação e desenvolvimento lento da resistência. Tais características fazem com que os biocarrapaticidas tenham um apelo comercial muito grande, permitindo controlar *B. microplus* de uma maneira menos agressiva ao meio ambiente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. **J. Econ. Entomol.**, v. 18, p. 265-267, 1925.
- 2- BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science**, v.228, p. 1154-1160, 1985.
- 3- BANERJEE, P.S. Efficacy of herbal formulation AV/EPP/14 on some ectoparasites of dogs and cattle. **J. Vet. Parasitol.**, v. 11, n. 2, p. 215-217, 1997.
- 4- BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J. Essential oils of the Eucalypts and related genera. **Amer. Chem. Soc.**, v.52, n. 5, p. 72-87, 1993.
- 5- BRATTSTEN, L.B. Cytochrome P-450 involvement in the interactions between plant terpenes and insect herbivores. *In*: DUNKEL, F.V. & SEARS, L.J. Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Ssp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.
- 6- CALDERONE, N.W.; BRUCE, W.A.; ALLEN-WARDELL, G.; SHIMANUKI, H. Evaluation of botanical compounds for control of the honey bee tracheal mite *Acarapis woodi*. **Am. Bee J.**, v. 131, p. 589-591, 1991.
- 7- CALDERONE, N.W.; WILSON, W.T.; SPIVAK, M. Plant extracts for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 90, n. 5, p. 1080-1086, 1997.
- 8- CHALCHAT, J.C.; MUHAYIMANA, A.; HABIMANA, J.B.; CHABARD, J.L. Aromatic plants of Rwanda. II. Chemical composition of essential oils of some *Eucalyptus* species growing in Ruhunde arboretum, Butare, Rwanda. **J. Essent. Oil Res.**, v. 9, p. 159-165, 1997.
- 9- CHUNGSAMARNYART, N.; JANSAWAN, W. Acaricidal activity of peel oil of Citrus spp. on *Boophilus microplus*. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)**, v. 30, p. 112-117, 1996.
- 10- CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)**, v. 26, p. 46-51, 1992.
- 11- CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S.; RATTANAKREETAKUL, C.; JANSAWAN, W. Practical extraction of sugar apple seeds against tropical cattle ticks. **Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)**, v. 25, p. 101-105, 1991.
- 12- DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **J. Econ. Entomol.**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.
- 13- DUKE, S.O.; PAUL, R.N.; LEE, S.M. Biologically active natural products – Potential use in agriculture. *In*: PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A.; OLIVEIRA, A. B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 9, n. 2, p. 193-197, 1998.
- 14- DUNKEL, F.V. & SEARS, L.J. Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Ssp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. **J. Stored**

- Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.
- 15- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (Colombo, PR). **Plantio de Eucalipto na Pequena Propriedade Rural**. Curitiba, 2000. 32p. (EMBRAPA - CNPF. Documentos, 54).
- 16- FAO PROTECTION BULLETIN. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. **FAO method n.º7**, v. 19, p. 15-18, 1971.
- 17- KLOCKE, J.A.; DARLINGTON, M.V.; BALANDRIN, M.F. 1,8 cincole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). **J. Chem. Ecol.**, v.13, p.2131-2141, 1987.
- 18- KUMAR R., CHAUHAN, P.P.S., AGRAWAL, R.D., SHANKAR, D. Efficacy of herbal ectoparasiticide AV/EPP/14 against lice and tick infestation on buffalo and cattle. **J. Vet. Parasitol.**, v. 14, n. 1, p. 67-69, 2000.
- 19- LEITE, R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1988. 151p. (Tese, Doutorado).
- 20- LI, H.; MADDEN, J.L.; POTTS, B.M. Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian *Eucalyptus* species II. Subgenus *Symphomyrtus*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 24, n. 6, p. 547-569, 1996.
- 21- MOUDACHIROU, M.; GBÉNOU, J.D.; CHALCHAT, J.C.; CHABARD J.L.; LARTIGUE, C. Chemical composition of essential oils of *Eucalyptus* from Bénin: *Eucalyptus citriodora* and *E. camaldulensis*. Influence of location, harvest time, storage of plants and time of steam distillation. **J. Essent. Oil Res.**, v.11, p. 109-118, 1999.
- 22- ODHIAMBO, T.R. **Current themes in tropical science: physiology of ticks**. Oxford: Pergamon Press, v. 1, 1982. 508p.
- 23- PANDA, D.N., MISRA, S.C. *In vitro* efficacy of herbal formulation AV/EPP/14 against dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **J. Vet. Parasitol.**, v. 11, n. 2, p. 155-159, 1997.
- 24- PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, A.B. Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre as pragas *Sitophilus oryzae* e *Sitophilus zeamais*. **Resumo do 16º Congresso Brasileiro de Entomologia**. Salvador - BA, p.303, 1997.
- 25- PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A.; OLIVEIRA, A. B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 9, n. 2, p. 193-197, 1998a.
- 26- PRATES, H. T.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; FABRIS, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; FOSTER, J. E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 243-249, 1998b.

- 27- PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, A.B. Ação fumigante do *Eucalyptus cameronii* sobre as pragas *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais*, *Rhizopertha dominica* e *Tribolium castaneum*. **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Recife-PE, v.22, p. 305, 1998c.
- 28- RICE, P.J.; COATS, J.R. Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 87, p. 1172-1179, 1994.
- 29- SAS – Statistics Analysis System. Versão 6. Cary, USA: SAS Institute, 1990, 1042p.
- 30- SINGH, C.B. Therapeutic evaluation of a herbal ectoparasiticide AV/EPP/14 on dogs. **J. Vet. Parasitol.**, v. 11, n. 1, p. 83-85, 1997.
- 31- SMALL, B.E.J. The australian eucalyptus oil industry – an overview. **Aust. For.**, v. 44, n. 3, p. 170-177, 1981.
- 32- TEMPLETON, W. An introduction of the chemistry of terpenoids and steroids. *In*: DUNKEL, F.V. & SEARS, L.J. Fumigant properties of physical preparatios from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Ssp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.
- 33- THOMAS, A.F., BESSIÈRE, Y. Limonene. **Natural Product Reports**, v. 6, n. 3, p. 291-309, 1989.
- 34- UILENBERG, G. Integrated control of tropical animal parasitoses. **Trop. Anim. Hlth Prod.**, v. 28, p. 257-265, 1996.
- 35- VERÍSSIMO, C.J., PIGLIONE, R. Comportamento de larvas de carrapato diante de uma substância repelente. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.65 (supl.), p.75, 1998.
- 36- WINDHOLZ, M.; BUDAVARIS.; STROUMTSOS, L.Y.; FERTIG, M.N. The Merck Index. *In*: DUNKEL, F.V.; SEARS, L.J. Fumigant properties of physical preparatios from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Ssp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.
- 37- ZRIRA, S.S.; BENJILALI, B.B.; FECHTAL, M.M.; RICHARD, H.H. Essential oils of twenty-seven *Eucalyptus* species grwon in Morocco. **J. Essent. Oil Res.**, v.4, p. 259-264, 1992.



## RESUMO

Realizou-se um estudo sobre a ação biocida de *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana* no carrapato *Boophilus microplus*, buscando-se a produção de acaricidas menos agressivos ao meio ambiente. Os óleos essenciais das três espécies e os concentrados emulsionáveis de *E. globulus* e *E. staigeriana* foram testados em cinco concentrações diferentes contra larvas e fêmeas ingurgitadas. Os óleos foram submetidos à análise por CG/EM (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas), a fim de se investigar sua composição. O citronelal é o principal componente do óleo de *E. citriodora*, sendo responsável por sua ação acaricida. O mesmo ocorre com o 1,8-cineol em *E. globulus*. Em *E. staigeriana* existem várias substâncias que agem sinergicamente contra *B. microplus*. O óleo essencial de *E. citriodora* matou 100% dos carrapatos a uma concentração média de 17,5%, *E. globulus* a 15% e *E. staigeriana* a 12,5%. Os concentrados emulsionáveis de *E. globulus* mataram 100% dos carrapatos a uma concentração média de 9,9% e *E. staigeriana* de 3,9%. O desenvolvimento de produtos que possam ser comercializados a preços competitivos serão passos a serem seguidos. Os biocarrapaticidas têm um apelo comercial muito grande, permitindo controlar *B. microplus* de um modo menos agressivo ao meio ambiente.

**UNITERMOS:** *Boophilus microplus*; Acaricidas; *Eucalyptus*; Óleos essenciais; Concentrados emulsionáveis.

## SUMMARY

Biocide action of *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus* and *E. staigeriana* were studied against *Boophilus microplus* tick, aiming the production of an environment friendly acaricide. Essential oil emulsion of three *Eucalyptus* species were tested in five different concentrations against larvae and

engorged female of *Boophilus*. Oils were submitted to GC/MS analysis looking for its composition. Citronelal is the major component of *E. citriodora* essential oil, being responsible for its acaricide action. The same happens with 1,8-cineole in *E. globulus*. In *E. staigeriana*, there are many substances involved in a synergic action against *B. microplus*. *E. citriodora* essential oil killed all ticks in an average concentration of 17,5% as compared to *E. globulus* with 15% and *E. staigeriana* with 12,5%. *E. globulus* concentrated emulsion killed all ticks in an average concentration of 9,9% and *E. staigeriana* of 3,9%. Further steps will be pursued to make those essential oils available to the farmers, since bioacaricides has commercial appeal, allowing *B. microplus* control in a less aggressive way to the environment.

**UNITERMS:** *Boophilus microplus*; Acaricides; *Eucalyptus*; Essential oils; Concentrated emulsion.

**Tabela 1**

Mortalidade causada pelos óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de eucalipto sobre larvas de *B. microplus*, nas diferentes concentrações testadas, em leituras de 48 h (Juiz de Fora, 2001).

Espécie	óleo puro %	mort.%	concentrado a 90% (%)	mort.%
<i>E. citriodora</i>	1	0 ± 0	*	*
	5	47 ± 3,7	*	*
	10	100 ± 0	*	*
	20	100 ± 0	*	*
	30	100 ± 0	*	*
<i>E. globulus</i>	1	0 ± 0	4	63 ± 6,2
	5	0,7 ± 0,5	4,9	85 ± 9,4
	10	48 ± 4,9	5,7	96 ± 0,3
	20	100 ± 0	6,5	99 ± 0,3
	30	100 ± 0	7,3	100 ± 0
<i>E. staigeriana</i>	1	40 ± 5,1	0,2	0 ± 0
	5	96 ± 2,6	0,4	6,5 ± 2,9
	10	100 ± 0	0,8	91 ± 3,4
	20	100 ± 0	1,6	100 ± 0
	30	100 ± 0	2,5	100 ± 0
	controle	5,5 ± 1,8	controle	0 ± 0

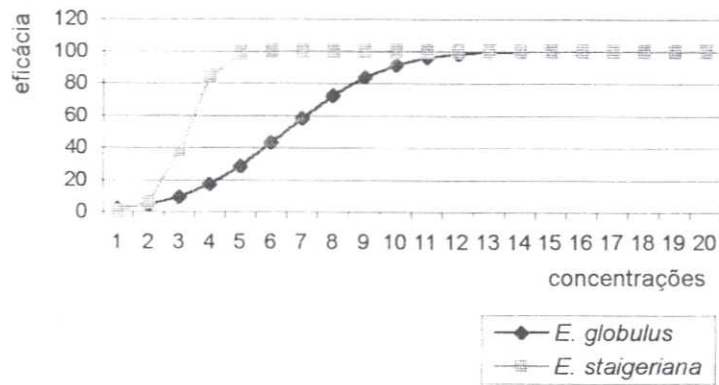
\* teste não realizado

**Tabela 2**

Eficácia dos óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de eucalipto sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, nas diferentes concentrações testadas (Juiz de Fora, 2001).

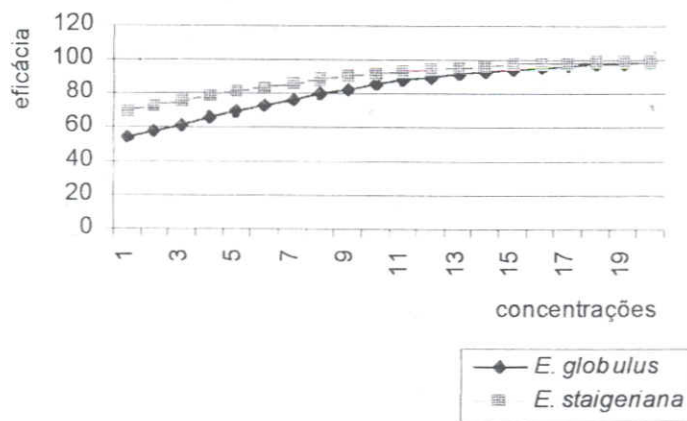
Espécie	óleo puro (%)	efic.%	concentrado a 25% (%)	efic.%
<i>E. citriodora</i>	5	45 ± 12,3	*	*
	10	73 ± 9,7	*	*
	15	94 ± 5,9	*	*
	20	99 ± 0,9	*	*
	25	100 ± 0	*	*
<i>E. globulus</i>	5	98,5 ± 2,2	0,12	36 ± 12,6
	10	100 ± 0	1,2	64,5 ± 6,8
	15	100 ± 0	3,1	74 ± 11,1
	20	100 ± 0	6,2	97,5 ± 2,1
	25	100 ± 0	12,5	100 ± 0
<i>E. staigeriana</i>	5	91 ± 5,1	0,12	24 ± 16,3
	10	94 ± 5,9	1,2	81 ± 8,6
	15	100 ± 0	3,1	98 ± 1,5
	20	100 ± 0	6,2	100 ± 0
	25	100 ± 0	12,5	100 ± 0
	controle	0 ± 0	controle	0 ± 0

\* teste não realizado



**Figura 1**

Mortalidade média estimada dos concentrados emulsionáveis (a 90%) de *E. globulus* e *E. staigeriana* sobre larvas de *B. microplus* em várias concentrações (%).



**Figura 2**

Eficácia média estimada dos concentrados emulsionáveis (a 25%) de *E. globulus* e *E. staigeriana* sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* em várias concentrações (%).

### ARTIGO 3

#### Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes<sup>1</sup>

Sensibility of *Boophilus microplus* tick to solvents

Ana Carolina de Souza Chagas<sup>2</sup> Romário Cerqueira Leite<sup>3</sup> John Furlong<sup>4</sup> Hélio Teixeira Prates<sup>5</sup> Wanderley Mascarenhas Passos<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado em Ciência Animal da UFMG da primeira autora;

<sup>2</sup> Doutoranda da Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Governador Valadares, 1002 – Manoel Honório, Juiz de Fora – MG, 36051-550, Brasil. (32)3226-5330

[chagasac@terra.com.br](mailto:chagasac@terra.com.br) ;

<sup>3</sup> Professor da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais;

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite;

<sup>5</sup> Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo;

<sup>6</sup> Professor do Curso de Controle de Vetores da Fiocruz e Pesquisador do PSI/Embrapa /UFRRJ.

#### RESUMO

Os experimentos realizados com acaricidas sintéticos ou naturais, geralmente necessitam da ação de um solvente. Objetivou-se testar a sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a diferentes solventes, observar diferenças de sensibilidade entre larvas e fêmeas ingurgitadas submetidas aos mesmos e diferenças entre métodos. Utilizou-se sete solventes em cinco concentrações diferentes, na ausência e na presença do azeite. A utilização do azeite em testes de larvas com papel impregnado foi dispensável, o que não ocorreu em testes de imersão de fêmeas ingurgitadas com solventes hidrofílicos. A mortalidade média causada por solventes foi menor nos testes com papel impregnado, aumentando nos testes de imersão de larvas e de fêmeas. Solventes de baixo peso

molecular e pouca viscosidade não interferiram na mortalidade média em testes biológicos de *B. microplus*, principalmente em concentrações inferiores a 76%. A utilização do grupo controle nestes testes é indispensável.

**Palavras-chave:** *Boophilus microplus*, solventes, testes biológicos, acaricida.

#### SUMMARY

Experiments carried out with synthetic or natural acaricides need a solvent action. The objective of this work was to investigate differences in sensitivity between larvae and engorged female of *Boophilus microplus* subjected to different solvents and methods. Seven solvents in five concentrations were used in presence and absence of olive oil. The utilization of olive oil in impregnated paper larvae test was unnecessary, but important in engorged female immersion test with hydrophilic solvent. The mean mortality caused by solvents was small in impregnated paper larvae test, increasing in immersion tests of larvae and female. Solvents with low molecular weight and viscosity caused little interference in the mortality of *B. microplus* biological tests, mainly in concentrations below to 76%. The use of control group is indispensable.

**Key words:** *Boophilus microplus*, solvents, biological tests, acaricide.

#### INTRODUÇÃO

O carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) parasita principalmente os bovinos por ser específico, mas pode esporadicamente parasitar outros animais, tais como eqüinos e ovinos (GONZALES, 1974). Os carrapaticidas têm sido o principal meio de controle do *B. microplus*, entretanto a

capacidade desse parasito adquirir resistência, tem prejudicado muito a aplicação dessa tecnologia. Quando a resistência se instala, o produtor freqüentemente aumenta a dose do pesticida ou a freqüência das aplicações (THULLNER, 1997). O uso indiscriminado dos defensivos químicos afeta o ambiente, os animais e as pessoas, mas com o uso de produtos de origem natural, o desequilíbrio ecológico e a contaminação ambiental poderiam ser minimizados (HERNÁNDEZ *et al.*, 1987).

Existem vários tipos de solventes que fazem parte das formulações carrapaticidas ou que são utilizados em experimentos com extratos vegetais. Eles têm a principal finalidade de solubilizar o principio ativo, proporcionando a distribuição homogênea do mesmo por toda a cutícula do artrópodo, ampliando sua área de ação. São poucos os trabalhos comparativos com relação à interferência dos diferentes solventes no resultado final de um experimento, ou ainda se diferentes estádios de um parasito reagem diferentemente na presença de um mesmo solvente. SHAW (1966) demonstra que a DL<sub>50</sub> de "dioxathion" (fosforado) diluído em xilol é de 0,00015%, enquanto que em nafta aromática pesada passa a ser de 0,00035%. Segundo BEADLES *et al.* (1973), sempre é importante distinguir entre o efeito do produto como um todo e dos demais componentes da fórmula sem o principio ativo, incluindo aí os solventes. Este é o procedimento que tem sido preconizado pela Organização Mundial para a Alimentação e a Agricultura das Nações Unidas (FAO PLANT PROTECTION BULLETIN, 1971).

Dentre os poucos trabalhos feitos sobre a ação de solventes, pode-se citar HADAWAY & BARLOW (1958) em *Aedes aegypti* e *Musca domestica*; REED *et al.* (1968) nos ácaros *Phyllocoptruta oleivora* e *Aculops pelekassi*; THIELE & HARRISON (1968) no ácaro *Tetranychus urticae*; BEADLES *et al.* (1973) em *Anocentor nitens*. Não foram encontrados trabalhos

comparativos da ação dos solventes em *B. microplus*.

Objetivou-se testar a sensibilidade de *B. microplus* a diferentes solventes, observar diferenças entre larvas e fêmeas ingurgitadas submetidas aos mesmos, e entre os métodos utilizados para a avaliação da mortalidade média. Espera-se com os resultados, facilitar futuros trabalhos onde se busque a utilização de produtos naturais no controle do carrapato, como alternativa aos atuais produtos comerciais sintéticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1) SENSIBILIDADE LARVAL EM PAPEIS IMPREGNADOS

Foram utilizadas duas repetições para cada solvente de pureza analítica (P.A.) adquiridos comercialmente: álcool etílico, álcool metílico, acetona, acetato de etila, dimetilsulfóxido (DMSO), uma mistura contendo triton (0,05%), água (0,6%) e álcool etílico (0,3%), e ainda o xilol, além do controle contendo água. A maioria destas substâncias é considerada bom solvente e é de fácil aquisição. Os solventes foram testados na concentração de 100% e estipulou-se que aqueles que provocassem mortalidade superior a 5% seriam também testados a 75, 50 e 25%. O xilol também foi testado a 5% em função da elevada mortalidade encontrada. O acetato de etila e o xilol, por serem pouco solúveis em água, precisaram ser solubilizados em álcool metílico em todos os testes deste trabalho, após detectar-se sua baixa toxicidade.

Utilizou-se a técnica adaptada por LEITE (1988), onde aproximadamente 100 larvas foram colocadas entre papéis de filtro de 2 x 2cm impregnados pelos solventes (0,4 ml para cada repetição), que formaram um "sanduíche", o qual foi colocado em um envelope de papel de filtro, vedado por pregadores plásticos, segundo FAO PLANT PROTECTION BULLETIN (1971). Os envelopes ficaram em estufa climatizada ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$  e UR > 80%) e as leituras foram feitas

24 e 48h depois, separando-se as larvas vivas das mortas utilizando-se uma bomba à vácuo com uma pipeta adaptada na ponta. Os solventes foram testados na ausência e na presença de azeite de oliva de boa qualidade (uma gota sobre o papel impregnado), já que nos testes preconizados pela FAO sugere-se a utilização do azeite como um carreador não volátil.

Para a obtenção das larvas, utilizou-se fêmeas ingurgitadas da cepa sensível (Porto Alegre, RS) provenientes de colônia da Estação Experimental de Coronel Pacheco, da Embrapa Gado de Leite, na Zona da Mata de Minas Gerais. Utilizou-se larvas com 14 a 21 dias de idade.

Cálculo da mortalidade:

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

$$\text{Mort. média (\%)} = \frac{\text{mort. da repetição 1} + \text{mort. da repetição 2}}{2}$$

Não foram incluídos testes que produziram resultados com mortalidade no grupo controle superior a 10%. Nos testes com mortalidade no grupo controle entre 5 e 10%, cada mortalidade média foi corrigida aplicando-se a fórmula de ABBOTT (1925). Não foram feitas correções quando a mortalidade do controle foi entre 0 e 5% e a mortalidade do teste foi de 0 ou 100%.

## 2) SENSIBILIDADE LARVAL EM TESTES DE IMERSÃO

Utilizou-se a técnica desenvolvida por SHAW (1966), que consistiu na imersão das larvas de carrapato por 10 minutos nos mesmos solventes e nas mesmas concentrações supracitadas. As larvas foram então secadas em papéis de filtro e aproximadamente 100 exemplares vivos foram transferidos para envelopes de papéis de filtro secos e acondicionados em estufa climatizada, com leitura de mortalidade realizada em 24h. Optou-se por não se avaliar a ação do azeite neste teste, pelo fato do tempo de imersão ser maior e o contato

com os solventes mais intenso que no teste com papel de filtro impregnado. O teste foi realizado com duas repetições.

## 3) SENSIBILIDADE DAS FÊMEAS INGURGITADAS EM TESTES DE IMERSÃO

Seguindo-se metodologia semelhante à descrita por DRUMMOND *et al.* (1973) grupos de 10 fêmeas foram pesadas e imersas por cinco minutos nos mesmos solventes e nas mesmas concentrações. Elas foram acondicionadas em estufa climatizada e tiveram seus ovos pesados e a eclodibilidade estimada visualmente, possuindo esse teste duas repetições. O azeite de oliva também foi testado, colocando-se 0,5 ml do mesmo em 20 ml dos solventes. A ação sobre as fêmeas foi calculada segundo a fórmula de porcentagem de controle ou de eficácia, descrita por DRUMMOND *et al.* (1973).

Os resultados desse trabalho foram submetidos à análise de variância do Procedimento General Linear Models (SAS, 1990) e o contraste entre médias foi feito utilizando-se o Teste Student Newman Keuls.

## RESULTADOS

No teste com papel impregnado, as larvas de *B. microplus* não sofreram ação letal superior a 5% diante do álcool metílico, álcool etílico, acetona, acetato de etila e mistura com triton, na concentração de 100%. No entanto o DMSO a 25% causou mortalidade de 22,5% em 24h e de 93% em 48h (sem azeite) e de 73% em 24h e de 100% em 48h (com azeite). O xilol causou mortalidade média de 100% e por isso foi testado também a 5%, demonstrando mortalidade de 1% em 24h e de 2,4% em 48h (sem azeite) e de 4,2% em 24h e de 39,4% em 48h (com azeite). Os solventes com azeite deixados em contato com as larvas durante 48h, provocaram maior mortalidade que na ausência do azeite com

24h, mas tais diferenças não foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

No teste de imersão de larvas, o álcool etílico a 100% apresentou mortalidade média inferior a 5%, ocorrendo o mesmo com o álcool metílico a 75%, com a acetona a 50% e com a mistura de triton a 25%. O DMSO e o acetato de etila apresentaram elevadas taxas de mortalidade mesmo a 25%, o que também ocorreu com o xilol a 5% (Tab. 1).

No teste de imersão de fêmeas ingurgitadas, o álcool metílico, o álcool etílico e a acetona demonstraram pouca toxicidade na ausência do azeite, mas sua presença aumentou esta toxicidade significativamente. A eficácia média dos solventes na presença do azeite foi de 61,2% e na ausência de 49%, sendo estes valores diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ). O crescimento da concentração do acetato de etila e da mistura com triton (com e sem azeite) não foi acompanhado por um crescimento linear da eficácia média (Tab. 2).

Na imersão de fêmeas os solventes apresentaram eficácia média geral de 55,1%, a imersão de larvas de 40,5% e a metodologia de papéis impregnados para larvas causou mortalidade de 30,4% (Tab. 3), sendo estes valores diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Os dados transformados para logaritmo indicaram que os solventes tiveram um padrão de penetração semelhante para os dois estádios, pois o álcool metílico, o álcool etílico e a acetona, tiveram maior eficácia com o aumento da concentração. Os demais sempre tiveram elevada eficácia, principalmente os testes de imersão de larvas e de fêmeas ingurgitadas.

## DISCUSSÃO

O teste de imersão de larvas demonstra possibilitar um contato maior com o solvente do que o teste com papel impregnado, permitindo a entrada do

produto pela cutícula do carrapato mais eficientemente. Observa-se também que o azeite de oliva no teste de papel impregnado é dispensável. No teste de imersão de fêmeas ingurgitadas, a presença do azeite aumentou a mortalidade média causada pelos solventes hidrofílicos. De uma maneira geral, as fêmeas se mostraram mais sensíveis aos solventes do que as larvas, embora estas ficassem 5 minutos a mais em contato com os mesmos no teste de imersão. Segundo ODHIAMBO (1982), no início do processo de alimentação a espessura da cutícula aumenta, mas depois ela é esticada e se torna de espessura igual ou parecida à da larva. Durante a alimentação nos ixodídeos, a síntese cuticular aumenta bastante, mas quando a cutícula está esticada ao final deste processo, ela volta praticamente à sua espessura original (GEROLT, 1970). Pouca informação foi encontrada a respeito desse processo especificamente em *B. microplus*, mas tudo indica que a espessura da cutícula não justificaria a maior sensibilidade das fêmeas aos solventes.

Acredita-se que a diferença de composição da cutícula entre larvas e fêmeas ingurgitadas é que possa justificar os resultados obtidos. De acordo com BALASHOV (1972), a cutícula dos carrapatos é formada pela camada externa, epicutícula (composta externamente por ceras e internamente por proteínas) e também pela camada interna, procutícula (quitina e proteína). Segundo ODHIAMBO (1982), a camada de ceras ou de lipídeos é vista em *B. microplus* somente a partir da ecdise na ninfa e, em maior quantidade, no adulto. Portanto, nas fêmeas ingurgitadas, os solventes precisam dissolver primeiro a camada de ceras da epicutícula, para só então passar para as camadas mais polares da cutícula, constituídas de proteínas hidrossolúveis. Quanto mais um produto químico for lipossolúvel, maior será a facilidade inicial que encontrará para penetrar a cutícula (ODHIAMBO, 1982). Este autor comenta que a produção de

lipídeos aumenta enquanto a fêmea se alimenta. Quando ela cai do hospedeiro, essa camada de cera protege a grande quantidade de água que existe em seu interior e além disso, seu principal componente é o colesterol, que funciona como um feromônio sexual de cópula. Em *B. microplus* a quantidade de lipídeos na camada externa passa de 22µg para 63µg durante a alimentação (SONENSHINE, 1991). A maior toxicidade revelada pelo álcool metílico, álcool etílico e acetona na presença do azite, indica a importância deste agente carreador na potencialização destes solventes com fêmeas ingurgitadas. Quando a camada de ceras é destruída nas fêmeas ingurgitadas, a grande perda de água para o meio é inevitável.

Segundo PASSOS (1994), a celulose do papel diminui a toxicidade de alguns defensivos químicos, capturando o princípio ativo e retendo-o. Talvez este fato também tenha colaborado na menor mortalidade detectada nos dois testes realizados com larvas em relação às fêmeas, já que ambos utilizaram papel de filtro.

HADAWAY & BARLOW (1958) afirmam que o aumento da ação do solvente sobre a cutícula do inseto, está relacionado ao aumento do peso molecular, ponto de ebulição e viscosidade do mesmo. No presente trabalho os solventes mais viscosos e/ou de maior peso molecular (Tab. 4), provocaram maior mortalidade nos testes de imersão. Os mesmos autores afirmam que o aumento da viscosidade pode não estar relacionado com o aumento linear da concentração letal e isto foi observado com o acetato de etila e com a mistura com triton. BEADLES *et al.* (1973) observaram que os solventes que possuem mais de 8 carbonos em sua estrutura impedem a oviposição. Tal fato ocorreu no presente trabalho com o xilol e embora o triton tenha 34 carbonos, o mesmo foi testado a uma concentração inferior a 0,05%, o que deve ter minimizado sua ação sobre *B. microplus*.

HARRISON (1961) sugere a utilização de querosene com no máximo 10% de xilol,

em experimentos com aplicação tópica. No presente trabalho observa-se que a utilização do xilol a 10% causaria alta mortalidade nos métodos utilizados. Segundo THIELE & HARRISON (1968), a acetona é muito utilizada em aplicação tópica, por evaporar rapidamente deixando o inseticida depositado de maneira uniforme sobre a cutícula do inseto. O dimetilsulfóxido é considerado um excelente permeabilizador de membranas, permitindo a penetração do produto a ser testado de maneira rápida. No entanto, o fato de causar alta mortalidade em *B. microplus* prejudica seu uso. DRUMMOND *et al.* (1973) indicam a utilização de 25 partes de inseticida, 10 partes de Triton X-100 e 65 partes de xileno na produção de concentrados emulsionáveis. Todavia o triton nessa concentração (10%) causaria mortalidade média maior que as detectadas no presente trabalho, onde foi testada a uma concentração máxima de 0,05%.

Os testes com extratos com potencial inseticida têm utilizado o álcool etílico, o álcool metílico e a acetona (CONSOLI *et al.*, 1988; KARR & COATS, 1988; SUJUTHA *et al.*, 1988). Especificamente com *B. microplus*, CHUNGSAMARNYART & JIWAJINDA (1992) e CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN (1996) utilizaram álcool etílico a 95% na diluição de óleos extraídos de plantas, na detecção de sua ação acaricida. WILLIAMS (1993) e PORTER *et al.* (1995) utilizaram acetona para testes de aplicação tópica de extratos vegetais sobre fêmeas de *B. microplus*. Esses trabalhos indicam a pouca toxicidade desses solventes hidrofílicos como o constatado no presente trabalho. No entanto é importante a existência do grupo controle nos experimentos para que se possa controlar possíveis interferências, tais como problemas no acondicionamento dos carrapatos e ação de solventes.



## CONCLUSÕES

A utilização do azeite em testes de larvas com papel impregnado é dispensável, não ocorrendo o mesmo nos testes de imersão de fêmeas ingurgitadas com compostos hidrofílicos. A mortalidade média causada por solventes é menor nos testes com papel impregnado, aumentando nos testes de imersão de larvas e de fêmeas. As fêmeas ingurgitadas são mais sensíveis aos solventes do que as larvas nos testes de imersão. Solventes de baixo peso molecular e pouca viscosidade, não interferem na mortalidade média em testes biológicos de *B. microplus*, principalmente quando utilizados em concentrações inferiores a 76%. A utilização do grupo controle nestes testes é indispensável.

## AGRADECIMENTOS

Ao pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Dr. Rui da Silva Verneque, pelo auxílio na análise estatística desse trabalho. À FAPEMIG e à CAPES pelo importante auxílio através de bolsas de estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. *J Econ Entomol*, v. 18, p. 265-267, 1925.
- BALASHOV, Y.S. A translation of bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals. *Misc Publ Entomol*, v. 8, n. 5, p. 159-376, 1972.
- BEADLES, M.L., DRUMMOND, R.O., WHETSTONE, T.M. Tropical horse tick: effects of solvents on oviposition. *J Econ Entomol*, v. 66, p. 125-127, 1973.
- CHUNGSAMARNYART, N., JANSAWAN, W. Acaricidal activity of peel oil of Citrus spp. on *Boophilus microplus*. *Kasetsart J (Nat Sci)*, v. 30, p. 112-117, 1996.
- CHUNGSAMARNYART, N., JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. *Kasetsart J (Nat Sci)*, v. 26, p. 46-51, 1992.
- CONSOLI, R.G.B., MENDES, N.M., PEREIRA, J.P., *et al.* Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência das larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 83, n. 1, p. 87-93, 1988.
- DRUMMOND, R. O., ERNEST, S. E., TREVINO, J. L., *et al.* *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. *J Econ Entomol*, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.
- FAO PROTECTION BULLETIN. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. *FAO method n.º 7*, v. 19, p. 15-18, 1971.
- GEROLT, P. The mode of entry of contact insecticides. *Pestic Sci*, v.1, p. 209-212, 1970.
- GONZALES, J.C. **O controle do carrapato dos bovinos**. Porto Alegre: Editora Sulina, 1974. 103p.
- HADAWAY, A.B. BARLOW, F. Some aspects of the effect of the solvent on the toxicity of solutions of insecticide. *Ann Appl Biol*, v. 46, n. 2, p. 133-148, 1958.
- HARRISON, R.A. Topical application of insecticide solutions to mites and small insects. *NZJ Sci*, v. 4, p. 534-539, 1961.
- HERNÁNDEZ, L. E., PARRA, D. G. MARIN, A. C. Acción repelente y acaricida del *Melinis minutiflora* sobre el *Boophilus microplus*. *Rev Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, v. 16, p. 17-21, 1987.

- KARR, L.L., COATS, J.R. Insecticidal properties of  $\alpha$ -Limonene. *J Pestic Sci*, v. 13, p. 287-290, 1988.
- LEITE, R. C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. Belo Horizonte, 1988, 151p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1988.
- ODHIAMBO, T.R. Current themes in tropical science: physiology of ticks. Oxford: Pergamon, v. 1, 1982. 508p.
- PASSOS, W.M. Contribuição para a melhoria no controle de algumas espécies de Malófagos (Insecta: Pitiiaptera), parasitos de galinhas de postura. Rio de Janeiro, 1994. 83p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994.
- PORTER, R.B.R., REESE, P.B., WILLIAMS L.A.D. Acaricidal and insecticidal activities of Candina-4,10(15)-dien-3-one. *Phytochemistry*, v.40, n. 3, p. 735-738, 1995.
- REDD, D.K., CRITTENDEN, C.R., LYON, D.J. Effect of ethyl and acetone on the toxicity of ethion in bioassays on two species of Rust Mites of Citrus. *J Econ Entomol*, v. 61, n. 4, p. 1003-1005, 1968.
- SAS – Statistics Analysis System. Versão 6. Cary, USA: SAS Institute, 1990, 1042p.
- SHAW, R.D. Culture of na organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and na assessment of its resistance spectrum. *Bull Ent Res*, v. 56, p. 389-405, 1966.
- SONENSHINE, D.E. *Biology of ticks*. Oxford: University Press, v. 1, 1991. 447p.
- SUJUTHA, C.H., VASUKI, V., MARIAPPAN, T., *et al*. Evaluation of plant extracts for biological activity against mosquitoes. *Int Pest Control*, v. 30, p. 122-124, 1988.
- SUN (SERÁ FORNECIDO PELO WANDERLEY PASSOS)
- THIELE, G.F., HARRISON, R.A. Selection os solvents for topical application acaricide testing. *Ent Exp Appl*, v. 11, p. 389-396, 1968.
- THULLNER, F. Impact of pesticide resistance and network for global pesticide resistance management based on a regional structure. *World Anim Review, R M Z*, v. 89, p. 41-47, 1997.
- WLLIAMS, L.A.D. Adverse effects of extracts of *Artocarpus altilis* Park. and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick. *Boophilus microplus* (Canest.) *Invert Reprod Development*, v. 23, n. 2-3, p. 159-164, 1993.

Tabela 1 – Mortalidade média (%) de larvas de *Boophilus microplus* submetidas ao teste de imersão com solventes.

solventes	concentrações				
	100%	75%	50%	25%	5%
controle	0,5				
álcool metílico	15,4	0	*	*	*
álcool etílico	3,9	*	*	*	*
acetona	8,9	6,7	0	*	*
DMSO	93,5	100	67	45	**
acetato de etila	100	100	100	41,3	**
mistura triton	36,4	77,5	7	2,1	*
xilol	100	100	100	93	20,2

\* Quando a mortalidade era < que 5% não eram feitos os demais testes.

\*\* Teste não realizado

Tabela 2 – Eficácia média (%) sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* submetidas ao teste de imersão com álcool metílico (M), álcool etílico (E), acetona (A), DMSO (D), acetato de etila (AE), mistura com triton (T) e xilol (X), com e sem azeite em diversas concentrações (Conc.).

Conc.	sem azeite							com azeite						
	M	E	A	D	AE	T	X	M	E	A	D	AE	T	X
100%	15	56	100	89	100	70	100	79	83	100	83	100	69	100
75%	0	0	10	55	88	72	100	36	19	83	81	33	90	100
50%	0	0	2	47	59	61	100	18	17	8	80	77	30	100
25%	0	0	0	24	78	53	100	8	22	18	58	40	90	100
5%	*	*	*	*	*	*	92	*	*	*	*	*	*	89

\* Teste não realizado

Tabela 3 – Comparação da mortalidade média geral (%) dos solventes sobre *Boophilus microplus* nos três métodos utilizados.

<i>Solventes</i>	<i>Contato larva</i>	<i>Imersão larva</i>	<i>Imersão fêmea</i>
álcool metílico	2,3 a	3,9 a	19,5 a
álcool etílico	3,5 a	1,0 a	24,6 a
acetona	2,2 a	3,9 a	40,1 b
DMSO	100 b	76,4 b	64,6 c
acetato de etila	2,7 a	85,3 b	71,9 c
triton	2,4 a	30,7 c	66,9 c
xilol	100 b	82,6 b	98,1 d
média	30,4	40,5	55,1

\* Médias com a mesma letra, na mesma coluna, não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

Tabela 4 - Solventes de pureza analítica (P.A.) testados contra *Boophilus microplus*, sua fórmula e peso molecular em  $\text{g mol}^{-1}$ .

Solventes	Fórmula	Peso molecular
álcool metílico	CH <sub>3</sub> OH	32.04
álcool etílico	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	46.07
acetona	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.08
DMSO	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> SO	78.13
acetato de etila	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88.11
triton*	C <sub>34</sub> H <sub>62</sub> O <sub>11</sub>	646.86
xilol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106.16

\* Concentração máxima de 0,05%.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

**Artigo 1:** Ação larvicida de derivados arilsulfonílicos da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona, no carrapato *Boophilus microplus*.

Sabe-se que no processo de manipulação de substâncias, como foi feito com a (+)-cânfora e com a (+)-isopinocanfona, existe uma grande chance de se perder as características originais das mesmas. No entanto, acreditava-se que alguns dos trinta e três derivados arilsulfonílicos testados pudessem expressar alguma atividade larvicida. A busca de princípios ativos menos tóxicos para o controle desse parasito se iniciou através do processo de clorossulfonação da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona. Como a mortalidade média em larvas sensíveis não foi significativa, descarta-se este processo como a rota de síntese mais adequada para a obtenção de derivados sintéticos com efeito larvicida, sugerindo-se que outros processos sejam utilizados na manipulação da (+)-cânfora e da (+)-isopinocanfona.

**Artigo 2:** Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis.

A plantação de *Eucalyptus* com o objetivo de se extrair óleos essenciais ainda é muito pequena no Brasil. O estudo das substâncias químicas que compõem estes óleos, pode indicar a existência de novas alternativas no controle de pragas, resistentes ou não aos produtos inseticidas tradicionais. O estudo realizado com os óleos de *E. citriodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana*, mostrou a diversidade de substâncias e sua utilização no controle do carrapato *B. microplus*. A maioria dos concentrados emulsionáveis oriundos destas espécies foram potencializados de maneira a

demonstrarem resultados ainda melhores que os óleos originais. Acredita-se que estes concentrados tenham uso potencial contra outros ectoparasitos da agropecuária, podendo-se investigar também sua ação contra endoparasitos. Estas prováveis formas de exploração dos produtos desenvolvidos, já estão protegidas através do processo de patenteamento, necessitando somente de serem realmente testadas e comprovadas.

**Artigo 3:** Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes.

Em função da grande dificuldade de se obter informações com relação à sensibilidade do carrapato *B. microplus* diante dos solventes, buscou-se realizar um trabalho que trouxesse maiores conhecimentos neste aspecto. O objetivo não foi mostrar a ação letal dos diferentes solventes contra este carrapato e sim, conhecer seu comportamento de maneira a facilitar e agilizar trabalhos realizados com diferentes estádios e metodologias. Os experimentos foram feitos com carrapatos de cepa sensível, para que trabalhos realizados com os mais diferentes graus de resistência tenham uma margem segura de erro a partir dos resultados aqui obtidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, J.C., HERNÁNDEZ, L.E., RIÑO, I., GALINDO, G. Aislamiento e identificación de algunos compuestos del aceite del pasto *Melinis minutiflora*. *Rev. Colombiana Cienc. Químico Farmacéuticas*, v.15, p.83-85, 1986.
- AMARAL, N.K. Guidelines for the evaluation of ixodicides against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 2, n. 2, p. 144-151, 1993.
- ANSARI, N., BAGHDIAANTZ, A., NANAGHI, P., SAEBI, E. *Preliminary study for assessing susceptibility of ticks to different insecticides and their selection for tick control*. Teheran: Multigraph, Inst. Parasitol. and Malariology, 1956. 4p.
- AYCARDI, E., BENAVIDES, E., GARCIA, O., MATEUS, G., HENAO, F., ZULUAGA, F.N. *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v.16, p. 78-84, 1984.
- BALANDRIN, M.F., KLOCKE, J.A., WURTELE, E.S., BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. *Science*, v.228, p. 1154-1160, 1985.
- BARROS, A.T.M., EVANS, D.E. Ação de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos, *Boophilus microplus*. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 9, n. 1/2, p. 17-21, 1989.
- BEADLES, M.L., DRUMMOND, R.O., WHETSTONE, T.M. Tropical horse tick: effects of solvents on oviposition. *J. Econ. Entomol.*, v. 66, p. 125-127, 1973.
- BITTENCOURT, V.R.E.P. Trials to control south american ticks with entomopathogenic fungi. In: FIFTH BIENNIAL CONFERENCE OF SOCIETY FOR TROPICAL VETERINARY MEDICINE. Tropical Diseases: control and prevention in the context of "The New World Order", Key West, Florida, EUA, *Anais...* 1999. p. 45.
- BRUM, J.G.W., TEIXEIRA, M.O. Doença em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) causada por *Cedecea lapagei* e *Escherichia coli*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.44, n.5, p. 441-443, 1992a.
- BRUM, J.G.W., TEIXEIRA, M.O. Acaricidal activity of *Cedecea lapagei* on engorged females of *Boophilus microplus* exposed to the environment. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.44, n.6, p. 543-544, 1992b.
- BUSVINE, J.R., NASH, R. The potency and persistence of some new synthetic insecticides. *Bull. Ent. Res.*, v. 44, p. 371-376, 1953.
- CALDERONE, N.W., BRUCE, W.A., ALLEN-WARDELL, G., SHIMANUKI, H. Evaluation of botanical compounds for control of the honey-bee tracheal mite, *Acarapis woodi*. *Ann. Bee J.*, v.131, p. 589-591, 1991.
- CALDERONE, N.W., SPIVAK, M. Plant extracts for control of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in Colonies of the western honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, v.88, p. 1211-1215, 1995.
- CEPLEANU, F. *Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation*. Lausanne: Université de Lausanne, Faculté des Sciences, 1993. 259p. (Tese, Doutorado).
- CHAVAN, S.R., SHAH, N.P., NIKAM, S.T. Individual and synergistic activity of some essential oils as mosquito larvicidal agents. *Bull. Haffkine Inst.*, v. 11, n. 1, p. 18-21, 1983.
- CHAVAN, S.R., NIKAM, S.T. Investigation of alkanes from neem leaves and their mosquito larvicidal activity. *Pesticides*, v. 11, p. 32-33, 1988.

- CHUNGSAMARNYART, N.,  
JIWAJINDA, S., JANSAWAN, W.,  
KAEWSUWAN, U.,  
BURANASILPIN, P. Effective plant  
crude-extracts on the tick (*Boophilus  
microplus*) I. Larvicidal action.  
*Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)*, v. 22, p.  
37-41, 1988.
- CHUNGSAMARNYART, N.,  
JIWAJINDA, S., JANSAWAN, W.  
Effects of plant crude-extracts on  
tropical cattle tick (*Boophilus  
microplus*) Insecticidal action I.  
*Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)*, v. 24, p.  
28-31, 1990.
- CHUNGSAMARNYART, N.,  
JIWAJINDA, S., JANSAWAN, W.  
Larvicidal effect of plant crude-extracts  
on the cattle tick (*Boophilus microplus*).  
*Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)*, v. 25, p.  
80-89, 1991a.
- CHUNGSAMARNYART, N.,  
JIWAJINDA, S., JANSAWAN, W.  
Acaricidal effect of plant crude-extracts  
on the cattle tick (*Boophilus microplus*).  
*Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)*, v. 25, p.  
90-100, 1991b.
- CHUNGSAMARNYART, N.,  
JIWAJINDA, S.,  
RATTANAKREETAKUL, C.,  
JANSAWAN, W. Practical extraction of  
sugar apple seeds against tropical cattle  
ticks. *Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.)*, v.  
25, p. 101-105, 1991c.
- CONNICK, W.J., NICKLE, W.R.,  
VINYARD, B.T. Pesta: new granular  
formulations for *Steinernema  
carpocapsae*. *J. Nematol.*, v. 25, n. 2, p.  
198-203, 1993.
- CONNICK, W.J., NICKLE, W.R.,  
WILLIAMS, K.S. VINYARD, B.T.  
Granular formulations of *Steinernema  
carpocapsae* (strain All)  
(Nematoda:Rhabditida) with improved  
shelf life. *J. Nematol.*, v. 26, n. 3, p.  
352-359, 1994.
- CRIBB, A.B., CRIBB, J.W. *Wild Medicine  
in Australia*. Fontana: Collins, Sydney,  
p. 71-75, 1983.
- DE JÉSUS, Z. de. The repellent and killing  
effects of gordure grass on the larvae of  
the cattle tick *Boophilus australis*.  
*Philipp. J. Anim. Ind.*, v. 1, p. 193-207,  
1934.
- DRUMMOND, R.O., ERNEST, S.E.,  
TREVINO, J.L., GLADNEY, W.J.,  
GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus*  
and *B. microplus*: laboratory tests of  
insecticides. *J. Econ. Entomol.*, v. 66,  
n.1, p. 130-133, 1973.
- DUA, V.K., NAGPAL, B.N., SHARMA,  
V.P. Repellent action of Neem Cream  
against mosquitoes. *Indian J.  
Malariol.*, v. 32, p. 47-53, 1995.
- DUNKEL, F.V., SEARS, L.J. Fumigant  
properties of physical preparatios from  
mountain big sagebrush, *Artemisia  
tridentata* Nutt. Ssp. *vaseyana* (Rydb.)  
bettle for stored grain insects. *J. Stored  
Prod. Res.*, v. 34, n. 4, p. 307-321,  
1998.
- EFWATAKALA GRASS. *Melinis  
minutiflora*, Beauv.. *Bulletins of  
Miscellaneous Information, Royal  
Botanic Gardens*, v.10, p. 305-316,  
1922.
- FAO PLANT PROTECTION BULLETIN.  
Recommended methods for the  
detection and measurement of  
resistance of agricultural pests to  
pesticides: tentative methods for larvae  
of cattle tick *Boophilus* spp. *FAO  
method n.º7*, v.19, p. 15-18, 1971.
- FAO, ROMA. *El control de las garrapatas y  
de las enfermedades que transmiten –  
Manual práctico de campo: control de  
las garrapatas*. Roma, v.1, 219p., 1987.
- FARIAS, N.A.R., GONZALES, J.C.,  
SAIBRO J.C. Antibiose e antixenose  
entre forrageiras e larvas de carrapato-  
de-boi. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.21, n.  
12, p. 1313-1320, 1986.
- FERNANDEZ-RUVALCABA, M., CRUZ-  
VAZQUEZ, C., SOLANO-  
VERGARA, J., GARCIA-VAZQUEZ,  
Z. Anti-tick effects of *Stylosanthes  
humilis* and *Stylosanthes humata* on  
plots experimentally infested with

- Boophilus microplus* larvae in Morelos, Mexico. *Exp. Appl. Acarol.*, v. 23, p. 171-175, 1999.
- FLORES, M.X., SILVA, J.S. Projeto Embrapa II – Do projeto de pesquisa ao desenvolvimento sócio-econômico no contexto do mercado. *Brasília: Embrapa – SEA*, p.55, 1992.
- FURLONG, J. Diagnostico de la susceptibilidad de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* a los acaricidas em el estado de Minas Gerais, Brazil. IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL: Control de la resistencia em garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que transmiten, 20-22 de outubro, Puerto Vallarta, Jalisco, México, *Anais...* 1999, p. 41-46.
- GEORGE, J.E. Naturally acquired immunity as na element in strategies for the control of ticks in livestock. *Insect Sci. Appl.* v. 13, p. 515-524, 1992.
- GUPTA, P.K., GUPTA, S., KHAN, M.H. *In vitro* activity of Neem based formulation against cattle ticks *Boophilus microplus*. *Indian J. Toxicol.*, v. 4, n. 1-2, p. 79, 1997.
- GUPTA, P.K., GUPTA, S., KHAN, M.H. Preliminary evaluation of neem based formulations against *Boophilus microplus*. *Indian J. Environ. Toxicol.*, v. 8, n. 2, p. 89-93, 1998.
- HADAWAY, A.B., BARLOW, F. Some aspects of the effect of the solvent on the toxicity of solutions of insecticide. *Ann. Appl. Biol.*, v.46, n. 2, p. 133-148, 1958.
- HANSENS, E.J. Chlordane-resistant brown dog ticks and their control. *J. Econ. Entomol.*, v.49, p. 281-283, 1956.
- HARRISON, I.R. The testing of compounds against the cattle tick *Boophilus microplus* with particular reference to the development of 2-cyclohexylphenyl-n-methylcarbamate. In: FAO, ROMA. *El control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten – Manual práctico de campo: control de las garrapatas*. Roma, v.1, 219p., 1987.
- HERNÁNDEZ, L.E., PARRA, D.G., MARÍN, N.C. Accion repelente y acaricida del *Melinis minutiflora* sobre el *Boophilus microplus*. *Rev. Colombiana Ciens. Químico Farmacéuticas*, v.16, p.17-21, 1987.
- HILL, D.E. Entomopathogenic nematodes as control agents of developmental stages of the black-legged tick, *Ixodes scapularis*. *J. Parasitol.*, v.84, n. 6, p. 1124-1127, 1998.
- HORN, S.C., DUBIN, L.C., SEVERO, J.E. Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos no Brasil. In: Brasil, Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Sanitária Animal. *Boletim de Defesa Sanitária Animal*, n. especial, 2ª ed., Rio de Janeiro, 1983, 79p.
- JACOBSON, M. Chemical insect attractants and repellents. *Annu. Rev. Entomol.*, v.11, p. 403-422, 1966.
- KAMBU, K., PHANZU, N., COUNE, C., WAUTERS, J.N., ANGENOT, L. Contribution to the study of the insecticidal and chemical properties of *Eucalyptus saligna* of Zaire. *Plant. Med. Phytother.*, v.16, n.1, p. 34-38, 1982.
- KARR, L.L., COATS, J.R. Insecticidal properties of  $\alpha$ -Limonene. *J. Pesticide Sci.*, v. 13, p. 287-290, 1988.
- KITAOKA, S., MORII, T. Supplementary tests on effects of new organophosphorus and other compounds as tickicides against *Boophilus microplus*. *Nat. Inst. Anm. Hlth, Tokyo Q.*, v. 3, p.32-35, 1963.
- KITAOKA, S., YAJIMA, A. Comparison of effectiveness between pesticides against *Boophilus microplus* by topical application and spraying. *Nat. Inst. Anm. Hlth, Tokyo Q.*, v.1, p.41-52, 1961.
- KLOCKE, J.A.; DARLINGTON, M.V., BALANDRIN, M.F. 1,8 cineole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil



- of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.*, v.13, p.2131-2141, 1987.
- KOCAN, K.M., PIDHERNEY, M.S., BLOUIN, E.F., CLAYPOOL, P.L., SAMISH, M., GLAZER, I. Interaction of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) with select species of ixodid ticks (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 35, n. 4, p. 514-520, 1998.
- LABRUNA, M.B., LEITE, R.C., OLIVEIRA, P.R. Vacina contra carrapatos. *Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG*, v. 27, p.27-42, 1999.
- LAWS, S.G. A biological test for assessing the acaricidal properties of DDT and "Gammexane" preparations. *Bull. Ent. Res.*, v. 39, p. 277-279, 1948.
- LOPES, U.A., ALARCON, M.E., BERNAL, J.E., BERMUDEZ, L.A., BUSTAMANTE, E. Gramíneas e leguminosas forrajeras en Colombia. *Inst. Colombiano Agropec. ICA*. Colombia, p.204-205, 1970.
- LUST, J.B. The Herb Book. In: KLOCKE, J.A., DARLINGTON, M.V., BALANDRIN, M.F. 1,8 cineole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.*, v.13, p.2131-2141, 1987.
- MACÊDO, M.E., CONSOLI, R.A.G.B., GRANDI, T.S.M., ANJOS, A.M.G., OLIVEIRA, A.B., MENDES, N.M., QUEIRÓZ, R.O., ZANI, C.L. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.92, n.4, p. 565-570, 1997.
- MANSINGH, A., WILLIAMS, L.A.D. Pesticidal potential of tropical plants – II. Acaricidal activity of crude extracts of several Jamaican plants. *Insect Sc. Appl.*, v. 18, n. 2, p. 149-155, 1998.
- MASKE, D.K., BHILEGAONKAR, N.G., JANGDE, C.R. Treatment of tick infestation in cattle with Pestoban. *Indian J. Indigenous Med.*, v. 17, n. 2, p. 81-83, 1995-1996.
- MAULÉON, H., BARRÉ, N., PANOMA, S. Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius), *Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). *Exp. Appl. Acarol.*, v. 17, p. 831-838, 1993.
- MENDES, N.M., ARAÚJO, N., SOUZA, C.P., PEREIRA, J.P., KATZ, N. Atividade moluscicida e cercaricida de diferentes espécies de *Eucalyptus*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 23, n. 4, p.197-199, 1990.
- MENÉNDEZ, R. R. "Melinis minutiflora" y la garrapata. *Rev. Agric. P. Rico*, v.12, n. 4, p. 219-223, 1924.
- MORDUE, A.J., NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.29, n. 4, p. 615-632, 2000.
- NAGPAL, B.N., SRIVASTAVA, A., SHARMA, V.P. Control of mosquito breeding using wood scrapings treated with neem oil. *Indian J. Malariol.*, v.32, p. 64-69, 1995.
- NOLAN, J. Acaricide resistance in single and multi-host ticks and strategies for control. *Parasitology*, v.32, p. 145-153, 1990.
- NORVAL, R.A.I., TEBELE, N., SHORT, N.J., CLATWORTHY, J.N. A laboratory study on the control of economically important tick species with legumes of the genus *Stylosanthes*. *Zimbabwe Vet. J.*, v.14, n. ¼, p.26-29, 1983.
- OSMANI, Z., ANEES, I., NAIDU, M.B. Insect repellent creams from essential oils. *Pesticides*, v.6, p. 19-21, 1972.
- PIETROSEMOLI, S., OLAVEZ, R., MONTILLA, T. Empleo de hojas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) em control de nematodos gastrointestinales

- de bovinos a pastoreo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, v. 16, supl. 1, p. 220-225, 1999.
- PORTER, R.B.R., REESE, P.B., WILLIAMS L.A.D., WILLIAMS, D.J. Acaricidal and insecticidal activities of Candina-4,10(15)-dien-3-one. *Phytochemistry*, v.40, n. 3, p. 735-738, 1995.
- PRATES, H.T., OLIVEIRA, A.B., LEITE, R.C., CRAVEIRO, A.A. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, v. 28, n. 5, p. 621-625, 1993.
- PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, A.B. Ação fumigante do 1,8 cineol e do R-(+)-limoneno sobre as pragas *Tribolium castaneum* e *Rhyzopertha dominica*. 15º CONGRESSO DE ENTOMOLOGIA. Caxambú-MG, *Anais...*, 1995. p.621.
- PRATES, H.T., LEITE, R.C., CRAVEIRO, A.A., OLIVEIRA, A.B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 9, n. 2, p. 193-197, 1998a.
- PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., FABRIS, J.D., OLIVEIRA, A.B., FOSTER, J.E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.*, v. 34, n. 4, p. 243-249, 1998b.
- REDD, D.K., CRITTENDEN, C.R., LYON, D.J. Effect of ethyl and acetone on the toxicity of ethion in bioassays on two species of Rust Mites of *Citrus*. *J. Econ. Entomol.*, v.61, n. 4, p. 1003-1005, 1968.
- ROSENFELD, A.H. Why not trap-crops that entrap? *J. Econ. Entomol.*, v.18, p. 639-640, 1925.
- SALLOUM, G.S., ISMAN, M.B. Crude extracts of asteraceous weeds: growth inhibitors for Variegated Cutworm. *J. Chem. Ecol.*, v. 15, n. 4, p. 1379-1389, 1989.
- SAMISH, M. Biocontrol of ticks. Annals of New York Academy of Sciences. FIFTH BIENNIAL CONFERENCE OF SOCIETY FOR TROPICAL VETERINARY MEDICINE. Key West, Florida, EUA, *Anais...*, 1999. p. 12-16.
- SAMISH, M., GLAZER, I. Infectivity of entomopatogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to female ticks of *Boophilus annulatus* (Arachnida: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 29, n.4, p. 614-618, 1992.
- SANTOS, J.P., PRATES, H.T., WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, A.B. Efeito do 1,8 cineol sobre *Sitophilus zeamais*. 15º CONGRESSO DE ENTOMOLOGIA. Caxambú-MG, *Anais...*, 1995. p.627.
- SANTOS, J.P., PRATES, H.T., WAQUIL, J. M., OLIVEIRA, A.B. Efeito do 1,8 cineol e do R-(+)-limoneno sobre *Tribolium castaneum*. 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. Salvador – BA, *Anais...*, 1997. p.178.
- SELZ, E. Pesticides formulation. Liquid concentrate problems. *J. Agric. Food. Chem.*, v.1, p. 381-386, 1953.
- SHAW, R.D. Culture of na organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and na assessment of its resistance spectrum. *Bull. Ent. Res.*, v. 56, p. 389-405, 1966.
- SHIDRAWI, G.R. A WHO global programme for monitoring vector resistance to pesticides. In: THULLNER, F. Impact of pesticide resistance and network for global pesticide resistance management based on a regional structure. *World Animal Review, RMZ*, v. 89, p. 41-47, 1997.
- SOUSA, I.S.F. A pesquisa e o problema de pesquisa: quem os determina. Brasília: *Embrapa – SPI/Embrapa – SEA*, p. 32, 1998.

- STONE, B.F., KNOWLES, C.O. A laboratory method for evaluation of chemicals causing the detachment of the cattle tick *Boophilus microplus*. *J. Australian Entomol. Soc.*, v.12, p. 165-172, 1973.
- STONE, B.F., HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res.*, v. 53, n. 3, p. 563-578, 1962.
- SUJATHA, C.H., VASUKI, V., MARIAPPAN, T., KALYANASUNDARAM, M., DAS, P.K. Evaluation of plant extracts for biological activity against mosquitoes. *Inter. Pest Control*, v.30, p. 122-124, 1988.
- SUKUMAR, K., PERICH, M.J., BOOBAR, L.R. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J. Amer. Mosquito Control Assoc.*, v. 7, n. 2, p. 210-234, 1991.
- SUTHERST, R.W., JONES, R.J., SCHNITZERLING, H.J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. *Nature*, v. 295, n. 28, p. 320-321, 1982.
- SUTHERST, R.W., WILSON, L.J. Tropical legumes and their ability to immobilize and kill cattle ticks. In: *Insects and the Pant Surface*. Eds B. E. Juniper and T. R. E. Southwood, London: Edward Arnold Ltd., p.185-194., 1986.
- SUTHERST, R.W., WILSON, L. J., REID, R., KERR, D. A survey of the ability of tropical legumes in the genus *Stylosanthes* to trap larvae of the cattle tick *Boophilus microplus* (Ixodidae). *Australian J. Exp. Agric.*, v. 28, p. 473-479, 1988.
- TATCHELL, R.J. Chemical control of parasitic acari.. 3<sup>RD</sup>. INTERNATIONAL CONGRESS. OF PARASITOLOGY, Anais..., 1974. p. 993-994
- THIELE, G.F., HARRISON, R.A. Selection of solvents for topical application acaricide testing. *Ent. Exp. Appl.*, v.11, p. 389-396, 1968.
- THOMPSON, K.C., ROA, J.E., ROMERO, T.N. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v. 10, p. 179-182, 1978.
- TORRADO, J.M.G., GUTIERREZ, R.O. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapata: Evaluación de sensibilidad. *Rev. Inv. Agropec., Série 4, Patol. Anim.*, v. 6, n. 14, p.135-158, 1969.
- TRIGG, J.K., HILL, N. Laboratory evaluation of a Eucalyptus-based repellent against four biting arthropods. *Phytotherapy Res.*, v. 10, p. 313-316, 1996.
- UILENBERG, G. Integrated control of tropical animal parasitoses. *Trop. Ann. Hlth. Prod.*, v. 28, p. 257-265, 1996.
- VATSYA, S., SINGH, N.P. Effects of chemical and herbal acaricides on calf skin. *Indian J. Vet. Pathol.*, v. 21, n. 1, p. 30-31, 1997.
- WALKER, A.R., BENAVIDES, O.E., BETANCOURT, A. Uso del concepto del manejo integrado de plagas para el control de garrapatas. *Carta Ganadera*, v. 25, n. 8, p. 52-57, 1988.
- WHITEHEAD, G.B. Acaricide resistance in the blue tick, *Boophilus decoloratus* (Koch) - Part I. *Bull. Ent. Res.*, v.49, p. 661-673, 1958.
- WHITEHEAD, G.B., BAKER, J.A.F. Acaricide resistance in the red tick, *Rhipicephalus evertsi*. *Bull. Ent. Res.*, v. 51, p. 755-764, 1961.
- WILEN, J., WILEN, L. Chicken Soup and Other Folk Remedies. In: KLOCKE, J.A., DARLINGTON, M.V., BALANDRIN, M.F. 1,8 cineole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.*, v.13, p.2131-2141, 1987.

- WILLIAMS, L.A.D. Adverse effects of extracts of *Artocarpus altilis* Park. and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick, *Boophilus microplus* (Canest.) *Invert. Reprod. Development*, v. 23, n. 2-3, p. 159-164, 1993.
- WILLIAMS, L.A.D., MANSINGH, A. The insecticidal and acaricidal actions of compounds from *Azadirachta indica* (A. Juss.) and their use in tropical pest management. *Integrated Pest Management Reviews*, v. 1, p. 133-145, 1996.
- WILSON, L.J., SUTHERST, R.W. Oviposition sites of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae) in *Stylosanthes* and grass pastures. *J. Australian Entomol. Soc.*, v. 29, n. 2, p. 101-105, 1990.
- WILKINSON, P.R. Effect of herbicidal hilling of shrubs on abundance of adult *Dermacentor andersoni* (Acarina: Ixodidae) in British Columbia. *J. Med. Entomol.*, v.13, p. 13-17, 1977.
- WOOD, W.F. Chemical ecology: chemical communication in nature. *J. Chem. Educ.*, v.60, n. 1, p. 531-539, 1983.
- ZAID, A.M.I., MAZZEED, M.M., SALEM, M.M. Evaluation of some natural bioactive substances for controlling *Acarapis woodi* (Rennie). *Bull. Entomol. Soc. Egypt Econ. Res.*, v.16, p. 283-287, 1987.
- ZIMMERMAN, R.H., GARRIS, G.I., BEAVER, J.S. Potential of *Stylosanthes* plants as a component in an integrated pest management approach to tick control. *Preventive Vet. Med.*, v.2, p. 579-588, 1984.

## APÊNDICE

Artigos e resumos publicados ou submetidos à publicação, durante o curso de Doutorado em Ciência Animal. Levando-se em consideração a greve das universidades federais em 2001, muitos dos trabalhos enviados ficaram com seus processos estacionados.

## ARTIGOS

CHAGAS, A.C.; PIEMONTE, D.V. & FILHO, J.R.R. Observações Comportamentais de *Callithrix penicillata* na Reserva Biológica Santa Cândida em Juiz de Fora – MG. *Bioscience Journal*, v. 15, n. 2, p. 25-33, 1999.

CHAGAS, A.C. & FILHO, J.R.R. Biologia do Comportamento de *Hydromedusa maximiliani* (MIKAN, 1820) (Testudines: Chelidae) na Reserva Biológica Santa Cândida em Juiz de Fora – MG. *Bioscience Journal*, v. 15, n. 2, p. 15-23, 1999.

CHAGAS, A.C.S.; FURLONG, J. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Brachiaria decumbens*. 1999. Enviado para publicação: *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science (USP)* - ISSN: 1413-9596, **REGISTRO: 022/01**.

CHAGAS, A.C.S.; FURLONG, J. & NASCIMENTO, C.B. Predation of engorged female ticks, *Boophilus microplus*, by the ant *Pachycondyla striata* in pastures. 1999. Enviado para publicação: *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (UFMG)* - **REGISTRO: A316/01**.

FURLONG, J.; CHAGAS, A.C.S. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini,

1887) (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Brachiaria decumbens*. 1999. Enviado para publicação: *Ciência Rural* - ISSN: 0103-8478, **REGISTRO: 149/01**.

NASCIMENTO, C.B.; CHAGAS, A.C.S. & FURLONG, J. Influência dos fatores climáticos na biologia e no comportamento de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* em *Pennisetum purpureum* (Shum). 1999. Enviado para publicação: *Ciência Rural* - ISSN: 0103-8478, **REGISTRO: 195/01**.

FURLONG, J.; CHAGAS, A.C. S. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Brachiaria decumbens*. 1999. Enviado para publicação: *Bioscience Journal (UFU)* – ISSN: 1516-3725, **REGISTRO: 063/01**.

CHAGAS, A.C.S. & VASCONCELOS, V.O. Foraging dynamic of the ant *Pachycondyla obscuricornis* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) in the field. 2001. Enviado para publicação: *Revista Brasileira de Zoociências (UFJF)* – ISSN: 1517-6770, **REGISTRO: 30/01**.

## RESUMOS

SOUZA, A.C.; FURLONG, J. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Anais do XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, Salvador/Bahia, 1999, p.71.

SOUZA, A.C.; FURLONG, J. & NASCIMENTO, C.B. Predação de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* em pastagem de *Brachiaria*

- decumbens*. *Anais do XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, Salvador/Bahia, p.71-72, 1999.
- FURLONG, J.; SOUZA, A.C. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Anais do XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, Salvador/Bahia, 1999, p.71.
- NASCIMENTO, C.B.; SOUZA, A.C. & FURLONG, J. Descrição ecológica e comportamental de larvas de *Boophilus microplus* em *Pennisetum purpureum* (Shum), nos meses de maior temperatura. *Anais do XVII Encontro Anual de Etologia*, Botucatu/SP, v. 17, 1999, p.69.
- NASCIMENTO, C.B.; SOUZA, A.C. & FURLONG, J. Descrição ecológica e comportamental de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* em *Pennisetum purpureum* (Shum), nos meses de maior temperatura. *Anais do XVII Encontro Anual de Etologia*, Botucatu/SP, v. 17, 1999, p.70.
- SOUZA, A.C. & FURLONG, J. Behaviour and ecology of engorged females of the tick, *Boophilus microplus*, in pastures of the grass, *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecias*, v.1, n.1, 2000, p.144.
- COSTA-JÚNIOR, L.M.; CHAGAS, A.C.S. & FURLONG, J. Eficiência da Salsada-Rua, *Ipomoea asarifolia* (Tubiflorae: Convolvulaceae) em testes de larvas contra o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Jornal Brasileiro de Patologia*, v.37, n. 4, Suplemento XV Congresso Latino-Americano de Parasitologia - RJ, 2001, p. 210.
- FREITAS, G.M.; CHAGAS, A.C.S. & FURLONG, J. Influência da
- FURLONG, J.; SOUZA, A.C. & NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de larvas de *Boophilus microplus* (Canes luminosidade sobre o deslocamento horizontal de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Boophilus microplus*. *XIX Congresso Brasileiro de Etologia*, Juiz de Fora - MG, nov. 2001, p.144.