



Miryâne Pereira Franco

AVALIAÇÃO IN VITRO DA AÇÃO DO EXTRATO DA ARRUDA (*RUTA GRAVEOLENS*) SOBRE TELEÓGINAS DO CARRAPATO BOVINO *R. (B.) MICROPLUS*

Dissertação de Mestrado

Cruz Alta- RS, 2016.

Miryâne Pereira Franco

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA AÇÃO DO EXTRATO DA ARRUDA (*RUTA GRAVEOLENS*) SOBRE TELEÓGINAS DO CARRAPATO BOVINO R. (*B.*) *MICROPLUS*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural da Universidade de Cruz Alta, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Desenvolvimento Rural.

Orientador: Prof^o. Dr. Méd. Vet. Jorge Damián Stumfs Diaz

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Méd. Vet. Patrícia Wolkmer

Cruz Alta- RS, dezembro de 2016.

Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ
Pró-reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA AÇÃO DO EXTRATO DA ARRUDA (*RUTA GRAVEOLENS*) SOBRE TELEÓGINAS DO CARRAPATO BOVINO
*R. (B.) MICROPLUS***

Elaborado por:

Miryâne Pereira Franco

Como requisito para obtenção do Título de mestre em Desenvolvimento Rural.

Comissão Examinadora:

Profº. Dr. Méd. Vet. Jorge Damián Stumfs Dias – Orientador _____ UNICRUZ

Profº. Dr. Méd. Vet. João Fábio Soares – Membro da Banca _____ UFRGS

Profª. Drª. Méd. Vet. Luciana Dalla Rosa – Membro da Banca _____ UNICRUZ

Cruz Alta, 13 de dezembro de 2016.

Dedico este trabalho aos meus pais,
Delmar e Ione (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me dar paciência, serenidade, saúde e força de vontade quando quis desistir.

Ao meu pai Delmar Franco, pelo apoio incondicional a todas minhas decisões, pela confiança inabalável e pela compreensão que dispensou, nestes dois anos, às minhas ausências... Sou e sempre serei muito grata a você por tudo que faz e já fez por mim. Como sempre digo: Pai igual ao meu não existe!

Ao meu neto João Gustavo que é a minha inspiração e a minha vida e embora sendo uma criança compreendeu minhas ausências durante a confecção deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz, pela constante disponibilidade em me ajudar e oportunidades oferecidas.

Ao professor Dr. João Fábio Soares, pelas valiosas conversas e sugestões que enriqueceram meu trabalho.

À minha co-orientadora, Prof. Dr^a. Patrícia Wolkmer, pelo papel decisivo que desempenhou para este projeto e para mim como mestranda. Agradeço por sua paciência e gentileza, corrigindo meus textos, fora de seu horário de trabalho.

Aos meus colegas e amigos: Muriel Dorneles, pelo seu auxílio e paciência no desenvolvimento do meu experimento no Laboratório de Microbiologia, a Carla Marchesan no laboratório de Patologia Clínica, no empréstimos de materiais, ao Edemar dos Anjos e ao Roberto Chaves, pela boa vontade como também no manuseio do gado na mangueira, para que eu pudesse fazer a coleta das muitas teleóginas e ao Adriano Guma que mesmo na correria me auxiliou na estatística do trabalho.

À UNICRUZ, por fornecer a infraestrutura necessária e uma excelente equipe de profissionais, imprescindíveis para a conclusão de muitas etapas deste trabalho.

Espero que eu não tenha deixado de mencionar ninguém, mas se por ventura algum nome não tiver sido lembrado por descuido ou esquecimento, aceite minhas desculpas e receba a minha gratidão.

RESUMO

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA AÇÃO DO EXTRATO DA ARRUDA (*RUTA GRAVEOLENS*) SOBRE TELEÓGINAS DO CARRAPATO BOVINO *R. (B.) MICROPLUS*

Autora: Miryâne Pereira Franco

Orientador: Prof^o. Dr. Méd. Vet. Jorge Damián Stumfs Dias

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Méd. Vet. Patrícia Wolkmer

O uso de agentes químicos no combate do carrapato do boi *R. (B.) microplus* gera perdas tanto econômicas quanto produtivas na pecuária brasileira, além de prover resistência. Assim, é grande a busca por plantas com potencial biocida. O objetivo desta pesquisa é avaliar *in vitro*, através do teste de imersão de fêmeas ingurgitadas, se o extrato da planta medicinal Arruda (*Ruta graveolens*) causam mortalidade ou interferiram em alguma fase de reprodução do *R. (B.) microplus*. A metodologia usada foi o teste *in vitro* por imersão de teleóginas, biocarrapaticidograma, no qual foi testado a ação *in vitro* dos extratos da planta *Ruta graveolens*, vulgarmente conhecida como arruda, em teleóginas do carrapato *R. (B.) microplus*. As teleóginas foram divididas em cinco grupos (I, II, III, IV e V), cada qual com dez teleóginas e com um peso homogêneo entre cada grupo, sendo realizadas 4 repetições totalizando 200 teleóginas. Cada grupo foi imerso em 10 ml da solução testada num período de 10 minutos, sendo Grupo I - água destilada, (grupo controle); Grupo II - extrato 100%; Grupo III - extrato 50%; Grupo IV) extrato 33,33%; Grupo V) extrato 25%. Após a imersão das teleóginas, foi então aguardado a postura das mesmas e em seguida analisados: a postura, inibição da postura, eficiência reprodutiva, eficiência do produto testado e a taxa de eclosão dos ovos nas diferentes concentrações do extrato utilizado no experimento. Conforme os resultados, pode-se concluir que a ação do extrato de arruda *in vitro* sobre as teleóginas de *R. (B.) microplus*, obteve um controle parcial do parasito e os resultados do grupo II ficaram próximos do limite mínimo indicativo de eficiência, reduzindo em mais de 52,11% a eclosão de ovos, comparando a eclosão em ambiente com água destilada (solução controle), No entanto, quando analisada a eficácia do produto nas concentrações 100%, 50%, 33% e 25% em teleóginas ingurgitadas do carrapato *R. (B.) microplus*, é possível comprovar que o extrato de arruda possui efeito carrapaticida, não sendo observada diferença estatística entre as diferentes concentrações testadas do extrato, onde foi encontrado o seguinte resultado por grupo: II (53,89%), III (54,92%), IV (51,71%) e V (43,90%), demonstrando assim, que este fitoterápico possui potencial para pesquisa como agente terapêutico.

Palavras-Chave: *R. (B.) microplus*. *Ruta graveolens*. Fitoterápico. Controle de carrapato.

ABSTRACT

IN VITRO* RUE EXTRACT ACTION (*RUTA GRAVEOLENS*) ON THE TICK ENGORGED FEMALES CATTLE *R. (B.) MICROPLUS

Author: Miryâne Pereira Franco

Advisor: Prof^o. Dr. Méd. Vet. Jorge Damián Stumfs Diaz

Co-advisor: Prof^a. Dr^a. Méd. Vet. Patrícia Wolkmer

The use of chemical agents in the cattle to combat *R. (B.) microplus* tick generates losses in economic and productive Brazilian livestock, and provides resistance. Thus, it is important research to evaluate the potential acaricides of plants. The aim of this study is to evaluate *in vitro*, through immersion engorged females test if the Rue medicinal plant extract (*Ruta graveolens*) cause mortality or interfered in any reproductive phase of *R. (B.) microplus*. The methodology used was the *in vitro* test by immersion of engorged females, which was tested *in vitro* effect of extracts of plant *Ruta graveolens*, commonly known as rue, in engorged females of the tick *R. (B.) microplus*. The engorged females were divided into five groups (I, II, III, IV and V), each with ten engorged female ticks and with a homogeneous weight of each group being made 4 replications totaling 200 engorged females. Each group was immersed in 10 ml of the test solution for 10 minute, with Group I - distilled water (control group); Group II - extract 100%; Group III - 50% extract; Group IV) 33.33% extract; Group V) extract 25%. After immersion test of engorged females was analyzed: posture rate, inhibition posture, reproductive efficiency, effectiveness of the test product and the hatching rate of the eggs in different concentrations of the extract used in the experiment. Results concluded that the action of rue extract on engorged females of *R. (B.) microplus*, obtained a partial parasite control and Group II results were close to the minimum indicative efficiency, reducing more than 52.11% hatching eggs in hatching comparing the environment with distilled water (control solution), however, when analyzed the efficacy of the product at concentrations 100%, 50%, 33% and 25% in females engorged tick *R. (B.) microplus*, it is possible to prove that rue extract has acaricide effect, not observed statistical difference between the different tested concentrations of the extract, which was found the following results by group: II (53.89%) , III (54.92%) and IV (51.71%) and V (43.90%), thus demonstrating that rue extract has potential as a therapeutic agent research.

Keywords: *R. (B.) microplus*. *Ruta graveolens*. Phytotherapy. Tick control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	<i>R. (B.) microplus</i> . A) Fêmea; B) Macho C) fêmeas ingurgitadas em bovino.....	17
Figura 2	Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato <i>R. (B.) microplus</i>	18
Figura 3	Arruda (<i>Ruta Graveolens</i>).....	32
Figura 4	Extrato de Arruda (<i>Ruta Graveolens</i>) em diferentes concentrações.....	33
Figura 5	Teleóginas secas em papel toalha após imersão no extrato testado.....	34
Figura 6	Teleóginas dispostas em cinco placas de Petri, cada uma contendo dez exemplares.....	34
Figura 7	Ovipostura, vinte dias do início da postura das teleóginas.....	35
Figura 8	Reunião de todos os ovos das dez teleóginas de cada placa de Petri.....	35
Figura 9	Ovos transferidos para recipientes de plástico devidamente identificados para a pesagem dos ovos.....	35
Figura 10	Ovos transferidos para cinco tubos de ensaio de vidro, com capacidade para 10ml, que foram vedados com algodão hidrófilo e devidamente identificados.....	36
Figura 11	Eclosão das larvas de carrapatos <i>R. (B.) microplus</i>	36
Figura 12	Médias das posturas (peso de ovo) e taxas de eclosão, analisados <i>in vitro</i> , utilizado diferentes concentrações do extrato de Arruda (<i>Ruta Graveolens</i>) em teleóginas de <i>R. (B.) microplus</i> de bovinos pela técnica de imersão de teleóginas.....	39
Figura 13	Avaliação da inibição das posturas, analisados <i>in vitro</i> , utilizado diferentes concentrações do extrato de Arruda (<i>Ruta graveolens</i>) em teleóginas de <i>R. (B.) microplus</i> de bovinos pela técnica do biocarrapatidograma.....	40
Figura 14	Análise da eficácia reprodutiva e eficácia do produto utilizado diferentes concentrações do extrato de Arruda (<i>Ruta graveolens</i>) em teleóginas de <i>R. (B.) microplus</i> de bovinos utilizado técnica de imersão de teleóginas.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Peso das teleóginas em Gramas.....	32
Tabela 2	Percentual de Eclosão (%) Análise visual.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - graus Celsius

% - porcentagem

a.C. - Antes de Cristo

AIT - Adult Imersion Test

BHC - Hexaclorobenzeno

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

Dr. - Doutor

Dr.^a. – Doutora

EP – Eficiência do produto

ER – Eficiência reprodutiva

FAO - Food and agriculture organization

g – Gramas

HV - Hospital veterinário

LPT - Larval Packet Teste

Méd. Vet. – Médico (a) Veterinário (a)

ml – mililitro

OMS - Organização Mundial da Saúde

R. (B.) - *Rhipicehalus (Boophilus)*

RS - Rio Grande do Sul

TPB - Tristeza Parasitária Bovina

UR – Umidade Relativa

UNICRUZ - Universidade de Cruz Alta

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 O carrapato - <i>R. (B.) microplus</i>	16
3.1.1 História.....	16
3.1.2 Taxonomia.....	16
3.1.3 Morfologia.....	17
3.1.4 Ciclo Biológico.....	18
3.1.5 Prejuízos ocasionados pelo <i>R. (B.) microplus</i>	20
3.1.6 Controle do <i>R. (B.) microplus</i>	20
3.1.7 Resistência do carrapato bovino <i>R. (B.) microplus</i>	22
3.2 Fitoterapia	25
3.2.1 Controle de parasitas.....	27
3.2.2 Arruda (<i>Ruta graveolens</i>).....	29
3.2.2.1 Classificação e características agronômicas.....	29
3.2.2.2 Constituintes químicos e propriedades farmacológicas.....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 Local	31
4.2 Preparo do extrato de Arruda (<i>Ruta Graveolens</i>)	31
4.3 Bioensaio	32
4.3.1 Teste <i>in vitro</i> com as teleóginas – <i>Adult Imersion Test</i>	33
4.4 Análise estatística	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

6 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

A pecuária bovina é uma das principais cadeias que compõe o agronegócio brasileiro, tanto em termos numéricos, quanto pela sua importância para a economia do país. Estima-se que o Brasil tenha em torno de 217,5 milhões de bovinos e exporte cerca de 1,5 milhões de toneladas de carcaça por ano, ocupando o segundo lugar mundial na produção de gado de corte e o quinto lugar em produção de leite (ANDREOTTI *et al.*, 2016). Mesmo com estes números expressivos alguns fatores diminuem a rentabilidade da produção pecuária nacional. As perdas causadas pelo carrapato dos bovinos representam uma quantia de US\$ 3.236,35 milhões de dólares por ano no Brasil para a bovinocultura (GRISI *et al.*, 2014) e estima-se que anualmente em alguns extratos produtivos cada animal parasitado deixa de produzir em média 90,24 litros de leite (RODRIGUES; LEITE, 2013).

O intuito de reduzir impactos econômicos e biológicos comparados aos diferentes agentes de origem química e a preocupação da sociedade em consumir alimentos livres de resíduos e agrotóxicos leva a busca por medidas naturais fitoterápicas no controle de parasitas. A infestação pelo carrapato dos bovinos, *R. (B.) microplus*, é um dos fatores limitantes para a melhor rentabilidade da produção pecuária nacional.

Conforme Powel e Reid (1982), o *R. (B.) microplus* adapta-se perfeitamente ao clima dos países tropicais, nos quais o calor e a umidade propiciam condições favoráveis à sobrevivência e manutenção da espécie. Portanto, este carrapato é o mais importante ectoparasito das regiões tropicais e subtropicais, atingindo mais de 75% da população mundial de bovinos. Nos países situados entre os paralelos 32° Norte e 32° Sul, *R. (B.) microplus* é a espécie de maior distribuição geográfica e importância econômica sendo o território brasileiro potencialmente favorável à sua sobrevivência, uma vez que as características climáticas favorecem o desenvolvimento do *R. (B.) microplus* na maioria dos meses do ano (VERÍSSIMO, 2015; RAYNAL *et al.*, 2015).

Esse carrapato também é vetor de patógenos causadores de doenças, tais como babesiose e anaplasnose. O carrapato *R. (B.) microplus* é responsável por grandes prejuízos na pecuária nacional, principalmente devido à redução no desempenho produtivo de bovinos. O desenvolvimento de resistência às principais classes de acaricidas empregadas atualmente tem sido largamente relatado, bem como a ocorrência de resíduos em produtos de origem animal e problemas ecológicos (ROCHA FILHO, 2014). Os prejuízos na pecuária causados por estes parasitas podem provocar danos de morbidade e mortalidade no rebanho bovino, com conseqüente queda de produção. No Brasil, as perdas relacionadas a esse carrapato são estimadas em cerca de 1 bilhão de dólares por ano, representadas pela ação direta do parasito, e também pelo custo dos sistemas de controle, os quais representam gastos anuais de cerca de R\$ 800 milhões com produtos químicos para o combate aos parasitas. O rebanho bovino brasileiro é composto de raças taurinas, zebuínas e mestiças, possuindo diferentes susceptibilidades ao desenvolvimento das fases parasitárias deste carrapato; existem ainda condições climáticas favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos seus estágios não parasitários (CORDOVÉS, 1997).

O controle efetivo de parasitas através de produtos químicos convencionais tem encontrado dois grandes problemas: o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e a preocupação da sociedade e órgãos governamentais com os resíduos nos produtos de origem animal. Estes dois pontos têm determinado efetivamente o rumo atual das pesquisas científicas na área da parasitologia (CHAGAS, 2004).

O aumento progressivo da resistência do carrapato *R. (B.) microplus* a compostos químicos tem como consequência o aumento também na frequência da aplicação de acaricidas, com a presença de resíduos desses produtos no leite e na carne (RAYNAL *et al.*, 2015; RAMOS *et al.*, 2009).

Para detecção de resistência de carrapatos frente a acaricidas, alguns métodos podem ser utilizados. Atualmente a FAO (*Food and Agriculture Organization*) preconiza dois testes *in vitro*, a saber: *Adult Imersion Test* (AIT) e *Larval Packet Teste* (LPT) (BAFF, 2006). Ainda há testes *in vivo* a campo, com a aplicação de acaricidas no próprio animal. Outras formas atualmente utilizadas são as técnicas bioquímicas e moleculares (ECKSTEIN *et al.*, 2016; RAMOS *et al.*, 2009).

Assim, os carrapatos têm sido, há muito tempo, um entrave sério para o produtor no dia-a-dia da propriedade. Apesar do esforço de todos os envolvidos no seu combate, o problema só tem aumentado no Brasil, principalmente pela intensificação dos sistemas de produção de leite e corte com aumento do grau de sangue europeu do rebanho, pelo aumento

generalizado da resistência das populações de carrapatos às bases químicas disponíveis no mercado, e pela ainda insipiente disseminação da informação técnica disponível, considerando a magnitude do problema e a dimensão do País (MARTINS; FURLONG, 2005).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Analisar a ação fitoterápica do extrato de Arruda (*Ruta graveolens*) para o controle do carrapato bovino, *R. (B.) microplus*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in vitro*, através do teste de imersão de fêmeas ingurgitadas, se o extrato da planta medicinal Arruda (*Ruta graveolens*) causam mortalidade ou interferem em alguma fase de reprodução do *R. (B.) microplus* através da análise dos seguintes itens:
 - A postura;
 - Taxa de eclosão dos ovos;
 - Inibição da postura;
 - Eficiência reprodutiva e a
 - Eficácia do produto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O carrapato - *R. (B.) microplus*

3.1.1 História

Acredita-se que estes artrópodes surgiram há aproximadamente 240 milhões de anos, durante o período triássico. Existem relatos que esses parasitas habitam a terra, em climas quentes e úmidos, desde o final do período paleolítico ou início do mesolítico e vêm se adaptando a seus hospedeiros, criando uma associação entre estes e os agentes infecciosos que transportam. Há registros da presença do carrapato em uma gravura em tumba egípcia, datada de 1500 a.C., representada por um animal semelhante à hiena com três protuberâncias no pavilhão auricular interno, que sugerem ser carrapatos (BROW *et al.*, 2006). Sua introdução no Brasil, provavelmente, ocorreu no início do século XVIII, sendo atualmente encontrado em todas as regiões, variando de intensidade de acordo com as condições climáticas e raças de bovinos (ANDREOTTI *et al.*, 2014).

3.1.2 Taxonomia

O carrapato *R. (B.) microplus* (Acari: Ixodidae) é um dos principais ectoparasitas de bovinos, ocasionando diversos problemas na pecuária bovina mundial, tais como depreciação do couro e queda na eficiência produtiva dos animais (BROW *et al.*, 2006). Pertencem ao filo Arthropoda, classe Arachnida, ordem Acari e subordem Ixodida e apresentam uma ampla distribuição geográfica.

3.1.3 Morfologia

Este carrapato é um ectoparasita que se alimenta de sangue, cujo prejuízo aos bovinos é causado pelas formas adultas do parasita, as fêmeas, também chamadas de teleóginas pois estas ingerem de 0,5 a 3,0 ml de sangue em toda a sua vida. O macho, bem menor, bem menor se alimenta de pequena quantidade de sangue. O bovino perde peso, produz menos leite e o enfraquecimento é generalizado, o que leva à pré-disposição de doenças (GONZALES, 1975). Na família do *R. (B.) microplus* o dimorfismo sexual é acentuado (Figura 1). Os machos apresentam um escudo que recobre toda sua face dorsal e nas fêmeas, larvas e ninfas o escudo é reduzido, não vai do propodossoma, região do corpo que vai do primeiro ao segundo par de pernas (FLETCHMANN, 1990).

Figura 1. *R. (B.) microplus*. A) Fêmea; B) Macho C) fêmeas ingurgitadas em bovino.



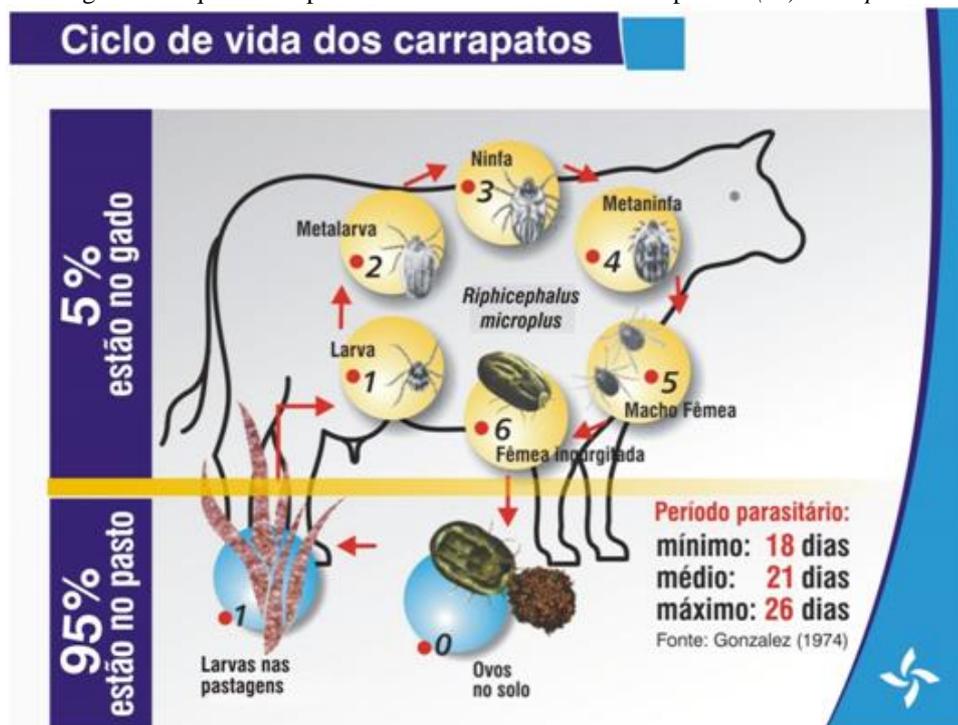
Fonte: <http://coo.fieldofscience.com> e <http://carrapatos.cnpqc.embrapa.br/museu.html>

Obrigatoriamente os carrapatos são parasitas hematófagos da maioria dos animais vertebrados, podendo transmitir uma variedade de agentes patogênicos. Depois dos mosquitos, os carrapatos são considerados o primeiro grupo de artrópodes ectoparasitos a transmitirem agentes patogênicos aos seres humanos, e ocupam o primeiro lugar na transmissão de agentes causadores de doenças aos animais (ANDREOTTI *et al.*, 2014). A presença de hospedeiros sensíveis, somada às condições ambientais favoráveis, especialmente entre os meses de setembro até meados de maio, levam a um aumento da população de *R. (B.) microplus* (GODOI; SILVA, 2009). Os prejuízos na pecuária causados por estes parasitas podem provocar danos de morbidade e mortalidade nos animais. As condições climáticas predominantes na maior parte do Brasil contribuem para aumentar a intensidade e o período de parasitismo, tornando os prejuízos determinados pelas infestações um problema significativo e impactante para os rebanhos bovinos nacional (VERÍSSIMO, 2015; RAYNAL *et al.*, 2015).

3.1.4 Ciclo Biológico

É um carrapato monoxeno e tem os bovinos como principal hospedeiro com preferência para *Bos taurus* em relação a *Bos indicus*. Seu ciclo de vida (Figura 2) compreende em: fase parasitária e fase não parasitária. A fase parasitária tem início com a fixação das larvas em hospedeiro suscetível e término quando os adultos, incluindo as fêmeas fecundadas e ingurgitadas, se desprendem do hospedeiro para realizar a postura no solo (PEREIRA; LABRUNA, 2008).

Figura 2. Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato *R. (B.) microplus*.



Fonte: <http://sites.beefpoint.com.br/biogenesis-bago/conheca-mais-sobre-ocarrapato-dos-bovinos-e-como-combate-lo/>

A fase parasitária, no bovino, dura aproximadamente 21 dias e a fase de vida livre, no solo, pode durar de 30 dias a oito meses. Seu parasitismo inicia pela larva, quase imperceptível a olho nu (JUNIOR, 2015). As larvas infestantes passam do capim para o bovino e tendem a se fixar nas regiões de pele mais fina, como períneo, base da cauda, entre pernas, virilha, úbere, escroto e interior da orelha (PESSOA, 2014; FARIAS, 1995). Em seguida fixam-se na pele e iniciam sua alimentação, que nos primeiros dias alimentam-se de linfa. As larvas se distendem (metalarvas) e sofrem a primeira metamorfose ou muda, originando as ninfas, em torno do oitavo dia após a fixação. As ninfas se alimentam de

sangue, se distendem (metaninfas), e sofrem nova metamorfose, liberando de seu interior um indivíduo sexuado, macho ou fêmea. O macho jovem chama-se neandro e ao se tornar adulto será denominado gonandro (15º dia após a fixação). A fêmea jovem chama-se neógina. Quando adulta, semi-ingurgitada, chama-se partenógina (18º dia) e nessa fase ocorre a fecundação. A fêmea fecundada continua seu repasto sanguíneo até se ingurgitar totalmente, quando se chama teleógina (21º dia), se desprendendo do bovino e vai ao solo iniciar a fase de vida livre (FARIAS, 1995).

Na fase não parasitária a fêmea ingurgitada de *R. (B.) microplus* pode chegar a ter 1400% do tamanho da larva e assim que se desprende do hospedeiro e cai no solo, procura abrigo, pelo menos parcial, embaixo de touceiras e de estolões de capim, contra a luz solar direta, em resposta ao fototactismo negativo, para a realização da postura (PEREIRA; LABRUNA, 2008; JUNIOR, 2015). Cada teleógina realiza a postura de 2.000 a 3.000 ovos. Sob condições adequadas de umidade e temperatura (mais de 70% de UR e 27°C), o período de postura se inicia dois a três dias após o desprendimento da teleógina, sendo totalizado ao final de 15 dias. O frio do inverno no sul do País podem prolongar os períodos de pré-postura e de postura do carrapato, pois são condições ambientais desfavoráveis (FARIAS, 1995). O pico de queda no solo de fêmeas ingurgitadas ocorre entre seis e 10 horas da manhã. Este dado é importante para compreender porque os tratamentos pela manhã, após este período, devem ser evitados, pois pode ocorrer um grande desprendimento de parasitas viáveis antes de entrar em contato com a droga (JUNIOR, 2015).

Encontrando condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento, do extremo Sul em direção ao Norte ou Nordeste, possibilitando-lhe completar de 2,5 a 5 gerações por ano, em locais com temperaturas médias anuais acima de 17° C. Estações secas severas podem limitar a sobrevivência do carrapato, podendo ir até a completa paralisação na incubação, postura, e até mesmo o fracasso desses estágios, quando a sobrevivência de um ano para outro se torna dependente da larva dormente do inverno (GODOI; SILVA, 2009). Os diferentes graus de infestação também estão relacionadas à época do ano, pois os animais são mais sensíveis no outono do que no inverno (PESSOA, 2014).

3.1.5 Prejuízos ocasionados pelo *R. (B.) microplus*

Para evitar prejuízos em decorrência da ação espoliativa dos carrapatos existem alguns métodos que procuram minimizar esse problema, tais como: o uso de produtos

químicos (carrapaticidas), vacinas, fitoterápico, seleção genética e a preservação e/ou utilização de inimigos naturais (controle biológico). Esses métodos tornam-se ainda mais eficazes quando empregadas na forma de “Manejo Integrado” e/ou “Estratégico”.

A inoculação da saliva (poderoso anticoagulante) do carrapato na pele dos bovinos desencadeia uma reação, com liberação de grande quantidade de histamina, principal responsável pela irritação (JUNIOR, 2015). Os principais problemas causados pelo carrapato aos bovinos são: ingestão de sangue, uma fêmea pode aumentar em 200 vezes o seu tamanho que, dependendo da infestação, pode comprometer a produção de carne e leite; inoculação de toxinas no hospedeiro promovendo diversas alterações e consequências fisiológicas; transmissão de agentes infecciosos, principalmente *Anaplasma* e *Babesias*, responsáveis pela tristeza bovina (GOMES, 1998).

Este carrapato é transmissor de diversos agentes patogênicos, destacando-se os causadores da “Tristeza Parasitária Bovina - TPB”, a qual compreende duas enfermidades bem conhecidas - a babesiose, determinadas pelos protozoários *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* e a anaplasmose, determinada por *Anaplasma marginale* (ANDREOTTI *et al.*, 2014).

3.1.6 Controle do *R. (B.) microplus*

Desde o final do século XIX (1895) pesquisadores vêm buscando produtos com a finalidade de combater o carrapato dos bovinos. Experimentaram, então, cerca de 300 produtos como, por exemplo, creosoto, sabão, fumo, querosene e enxofre, sempre, porém, adicionados a óleos minerais. Foi total o insucesso dessas experiências devido à mortalidade de animais por intoxicação e ao fracasso no controle. Em 1896 surge a solução, por meio de um fazendeiro australiano, o qual formulou uma receita de sucesso baseada no uso do arsênico em diluição na água e para utilização em banho, a qual é instituída como oficial pelo governo da Austrália. Durou pouco essa tranquilidade no controle do carrapato, uma vez que em 1937 foi detectada resistência de populações do carrapato ao arsênico.

No Brasil, populações resistentes ao arsênico começaram também a aparecer em 1946, e foram controladas com Hexaclorobenzeno (BHC), Diclorodifeniltricloroetano (DDT), e outros produtos do grupo químico dos organoclorados. E desde aí essa luta contra o carrapato dos bovinos só tendeu a aumentar. Apesar de todo o investimento feito pela indústria química em pesquisa e desenvolvimento, sucessivamente o carrapato foi sendo capaz de desenvolver estratégias para escapar da intoxicação pelos carrapaticidas que foram

sendo colocados no mercado. Depois de, no mínimo, 50 anos de estudos em relação ao comportamento dos carrapatos diante dos carrapaticidas, resta muito a saber, porém já é possível conhecer muito dessa relação e, com certeza, evitar os erros do passado e do presente, responsáveis em parte, pelo atual estado de disseminação da resistência entre as populações do parasita no Brasil (SOUZA; FURLONG, 2005). Os produtos de controle são classificados em grupos químicos que podem ser, também, divididos segundo a forma de atuação.

- ▶ De contato: Aplicados por meio de pulverização, imersão ou *pour on*.
- ▶ Sistêmicos: São aplicados por meio de injeções ou *pour on* na linha dorsal. O princípio ativo do produto é metabolizado pelo organismo e distribuído por todo o corpo do animal por meio da circulação sanguínea.

Ainda hoje, o método mais empregado para controlar o parasita é baseado na aplicação de acaricidas, os quais vem apresentando limitações em sua utilização decorrente do uso abusivo e inadequado destes produtos, aumentando a pressão de seleção de indivíduos e levando ao desenvolvimento da resistência aos acaricidas utilizados. Assim sendo, escolher o produto adequado ao combate da população de carrapatos de cada propriedade por meio de bioensaios é a forma correta para avaliação da suscetibilidade dos mesmos.

O controle convencional de parasitas baseado na utilização de carrapaticidas, há anos vem demonstrando sua ineficácia como estratégia de controle a longo prazo, através de recorrentes relatos de populações de ectoparasitas resistentes às formulações comercialmente disponíveis. Além das perdas relacionadas à bovinocultura em si, existem diversos prejuízos relacionados à mão-de-obra necessária para o controle desse parasito, despesas com instalações, compra de acaricidas e equipamentos adequados para sua aplicação, entre outros (FREITAS, 2006). Apesar de sua importância econômica e das consequências de seu controle químico inadequado, inexistente um programa oficial, de âmbito nacional, de controle ou manejo integrado do carrapato bovino (GOMES; KOLLER; BARROS, 2011).

GOMES, (1998) afirma ainda que as pulverizações manuais sejam mais indicadas para as propriedades com poucos animais, enquanto que os banheiros de imersão são para aquelas com grande número de animais. Em qualquer dos métodos empregados, é de fundamental importância o período residual do produto, para que as aplicações sejam realizadas com intervalos de 14 ou 21 dias. O número de banhos com estes intervalos vai depender da redução almejada e da densidade populacional. Existem duas alternativas de

épocas de aplicações dos carrapaticidas: aplicar o primeiro banho em setembro/outubro início das chuvas repetindo-se a operação mais três vezes em intervalos de 14 ou 21 dias ou, após o primeiro tratamento, transferir os animais para pastagens limpas de carrapatos; a aplicação de uma série de cinco ou seis tratamentos a intervalos de 21 dias no período de janeiro a março. Com isso, pode-se evitar o desenvolvimento das larvas do carrapato por um período de 105 dias, retirando grande parte da população de larvas das pastagens e, conseqüentemente, diminuindo significativamente a quantidade de teleóginas no pasto.

3.1.7 Resistência do carrapato bovino *R. (B.) microplus*

Os relatos de resistência se estendem para diversos produtos como os piretróides, sendo esta considerada a resistência mais disseminada, organofosforados, associação piretróide-fosforado e ao amitraz (SILVA et al., 2000), sendo que o amitraz após um determinado tempo de utilização (anos), poderá reverter a resistência.

Ao longo do século passado a indústria farmacêutica veterinária desenvolveu medicamentos mais eficazes e como resultado, as perdas associadas a produtividade dos rebanhos foram reduzidas. O acesso fácil a produtos parasiticidas e a facilidade com que eles podem ser aplicados, combinado ao progresso no conhecimento da epidemiologia de parasitas de ruminantes, levou a um período de relativo sucesso no controle das parasitoses, particularmente em sistemas de produção intensivos. No entanto a falsa suposição de que o controle parasitário pode ser facilmente realizado somente através da utilização de produtos químicos levou ao aparecimento da resistência às bases químicas parasiticidas mais utilizadas, aumentando também a presença de resíduos nos produtos de origem animal, além da perda de confiabilidade dos produtores na eficiência dos programas sanitários de controle de parasitas (VERÍSSIMO, 2015).

O principal método de controle do carrapato bovino *R. (B.) microplus* é o uso de carrapaticidas sintéticos. Entretanto, o rápido desenvolvimento de resistência ao princípio ativo, os riscos de resíduo nos produtos de origem animal e a contaminação ambiental tem incentivado a busca por fontes alternativas de controle desse parasita (DANTAS, 2009).

Os mecanismos geralmente utilizados pelas populações resistentes de carrapatos para sobreviver à aplicação do carrapaticida são: a redução na taxa de penetração do produto, as mudanças no metabolismo, no armazenamento e na eliminação do produto químico, e através de alterações no local de ação do produto. É importante salientar que, uma vez instalada a

resistência de uma população de carrapatos a um determinado produto, essa resistência será também instalada para os outros produtos da mesma família ou grupo químico, ou ainda para produtos diferentes, porém com atuação no mesmo sítio de ação, e, para sempre, sem reversão da resistência, estando perdidos esses produtos dessa família para utilização na população de carrapatos do rebanho no futuro. No entanto, o que se percebe na prática é que a indústria, se por um lado tem deixado a desejar no desenvolvimento de novos grupos químicos, por outro lado, alguns laboratórios têm buscado um diferencial na qualidade da matéria-prima e do veículo empregado em cada formulação. Como resultados, encontram-se produtos de princípios ativos semelhantes, mas com eficiências completamente diferentes em relação a uma determinada população de carrapatos. Portanto, o único critério confiável para se decidir pela utilização ou não de um carrapaticida deve ser o resultado do teste de sensibilidade realizado para cada propriedade (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007).

O uso inadequado e exagerado de vermífugos, carrapaticidas e outros, faz com que o problema dos resíduos se acentue, alarmando a sociedade consumidora. É desta forma que os produtos orgânicos, e com eles, a agricultura orgânica, têm conquistando espaço na agropecuária, indicando uma forma de uso, isolada ou associada, de substâncias naturais, que geram produtos com menos resíduos e mais valorizados no mercado (GODOI; SILVA, 2009). Portanto, o controle do *R. (B.) microplus* representa um desafio para a viabilidade da pecuária mundial, tanto pelos custos com os tratamentos, quanto pela incerteza da eficácia do controle pelo uso das drogas comumente utilizadas (NUNES *et al.*, 2015; PESSOA, 2014).

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. A resistência a diversos acaricidas que se desenvolveu em isolados do carrapato *R. (B.) microplus* 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". O uso de muitos dos carrapaticidas atuais afetam o meio ambiente e outros organismos, fazendo com que se busque alternativas urgentes para os produtos químicos comerciais (CLEMENTE *et al.*, 2007, PESSOA, 2014).

O diagnóstico precoce da resistência em populações parasitárias pode viabilizar o uso mais adequado dos grupos químicos disponíveis para o controle das infestações por carrapato, já que novos compostos não estão sendo disponibilizados com a mesma velocidade com que a resistência se estabelece nas populações. Novas opções para o controle parasitário e para o manejo da resistência em populações do carrapato dos bovinos são prioritárias para que se

possa reduzir a dependência química e a emergência da resistência, bem como o consequente aumento dos custos de produção e dos riscos ambientais e à saúde daqueles que trabalham e, ou consomem alimentos de origem animal (VERÍSSIMO, 2015).

Dentro desse contexto, o uso de fitoterápicos aponta como uma alternativa no controle do carrapato, podendo reduzir os impactos econômicos e ambientais ao uso de produtos químicos sintéticos (DANTAS, 2009).

A ampliação dos cuidados e preocupações com os animais de companhia ou de produção está diretamente relacionada com a questão do bem-estar animal e a saúde de ambos. Para garantir a sanidade do animal, é necessário preservar o seu estado de saúde, evitando a transmissão de doenças a outros animais e até mesmo aos seres humanos. Sabe-se também que o uso de fitoterápicos tanto na medicina humana como na veterinária deve-se a algumas vantagens. Dentre elas destacam-se: preço reduzido e menores efeitos colaterais, quando comparados aos medicamentos convencionais (SILVA *et al.*, 2013).

Além disso, carrapaticidas à base de piretróide, ivermectinas, doramectina e eprinomectina sobre a biologia de insetos coprófagos (aqueles besouros que se alimentam e proliferam nas fezes dos bovinos, ajudando a desfazer os bolos fecais e incorporar a matéria orgânica para o solo), sendo a moxidectina a molécula que menos influi sobre insetos que se proliferam nas fezes de bovinos (VERÍSSIMO, 2015).

No Brasil, a resistência das populações de carrapatos aos carrapaticidas é generalizada. De acordo com Ueno *et al.* (2012), o controle químico ainda é a forma mais utilizada para o seu controle, porém, há relatos de resistência dos carrapatos a vários princípios ativos em diversos países e que a maioria dos produtores ainda não conhecem o biocarrapaticidograma e aplicam carrapaticidas sem critério técnico. Os resultados mostram a necessidade de orientação aos produtores quanto à utilização do biocarrapaticidograma como critério para escolha do acaricida. Um monitoramento constante da resistência também é relevante para melhor caracterização do nível de resistência.

Há relatos de resistência de populações deste ectoparasito a maior parte dos pesticidas sintéticos usados no Brasil. Em alguns casos, *R. (B.) microplus* apresenta resistência antes de entrar em contato com determinado produto. Isso ocorre porque já existiam alguns indivíduos naturalmente resistentes, ou então, como é mais comum, o uso frequente do produto causou alterações genéticas em alguns indivíduos da população tornando-os menos suscetível. É o chamado estabelecimento do alelo resistente. A continuidade do uso desse produto faz aumentar o número de indivíduos com essa característica de resistência. Isso ocorre, uma vez que morre a maioria dos indivíduos

sensíveis e os resistentes acasalam entre si, produzindo descendentes cada vez mais resistentes e em maior número na população. A predominância do alelo resistente ou o aparecimento da resistência é o momento em que a maior parte da população descende de carrapatos resistentes. Estes carregam, em maior ou menor porcentagem, os genes responsáveis pelas alterações fisiológicas, bioquímicas ou comportamentais, capazes de fazer a população sobreviver aos acaricidas empregados em seu controle (FURLONG, 2000; PESSOA, 2014; SANTANA *et al.*, 2009).

O combate a esses parasitas tem consumido recursos no emprego de acaricidas químicos, contudo, o desenvolvimento de resistência a esses produtos tem progredido rapidamente. Diversas pesquisas relacionadas ao controle de *R. (B.) microplus* estão sendo desenvolvidas, tais como: o desenvolvimento de vacinas, rotação de pastagens, cruzamentos com raças bovinas resistentes, controle biológico com alguns tipos de fungos e uso de homeopatia e extratos vegetais. Contudo, a maior parte dos pecuaristas utiliza ou tem acesso, apenas a produtos químicos para fazer o controle desse ectoparasita (BIEGELMEYER *et al.*, 2012; COSTA JUNIOR, 2014).

O mercado de substâncias acaricidas no Brasil movimentava cerca de US\$ 960 milhões por ano e constitui 34% do mercado de produtos veterinários. Para serem registrados, os novos produtos para o controle do carrapato devem apresentar pelo menos 95% de eficácia, segundo critérios do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (SILVA FILHO *et al.*, 2013).

3.2 Fitoterapia

Uma saída para os problemas de resistência advindos do uso constante de medicamentos tradicionais são as terapias não convencionais, como fitoterapia, homeopatia e acupuntura. O Brasil só teria a ganhar, principalmente em mercados externos, se os produtos de origem animal, fossem obtidos de uma criação totalmente livre de resíduos químicos-criação orgânica. Justifica-se, portanto, a realização de uma pesquisa com a finalidade de estender à Medicina Veterinária o uso destes princípios ativos das plantas medicinais, provando cientificamente aquilo que já é conhecido empiricamente: o poder das plantas agindo na cura e manutenção do equilíbrio orgânico e ambiental (AURNHEIMER *et al.*, 2012; HOCAYEN; PIMENTA, 2013).

A fitoterapia é o ramo da ciência médica que utiliza plantas, drogas vegetais e seus preparados para o tratamento de enfermidades. A medicina verde, como também é conhecida, é tão antiga quanto o gênero humano. Pré-hominídeos, pitencantropos, sinantropos ou africanthropos guiados pelo mesmo instinto que os gatos e os cachorros quando comem ervas para purgar-se, sabiam distinguir as plantas comestíveis daquelas que podiam curar; cicatrizar ou aliviar. O tratamento de diversas moléstias através do uso da flora é conhecido desde a antiguidade, porém em meados do século XIX, as plantas medicinais perderam sua importância e passaram a ser utilizadas como terapia alternativa no Brasil (POZZATTI *et al.*, 2012).

De acordo com Campos *et al.* (2012), as espécies botânicas mais usadas como plantas pesticidas pertencem às famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Lamiaceae e Canellaceae. Plantas com atividade inseticida têm sido utilizadas pelo homem desde tempos remotos, e é uma prática que continua até os dias atuais, com mais de duas mil plantas com propriedades pesticidas conhecidas. Algumas plantas possuem extratos que exibem atividade acaricida, como é o caso do óleo de Neem (*Azadirachta indica*), o qual pode ser uma alternativa para o controle do carrapato bovino, reduzindo a utilização de acaricidas químicos, e por consequência reduzindo a pressão de seleção para a resistência (BROGLIO MICHELETTI *et al.*, 2010).

Na América Latina, a agricultura de subsistência tem utilizado diversas plantas para o controle de insetos: alho (*Allium sativum*), fruta-do-conde (*Annona squamosa*), mamona (*Ricinus cummunis*), Artemísia (*Artemisia ludoviciana*), louro (*Laurus nobilis*), coentro (*Coriandrum sativum*), arruda (*Ruta graveolens*), cravo-de-defunto (*Tagetes spp.*), urtiga (*Urtica urens*), maria-preta (*Cordia verbenacea*), chagas (*Tropaeolum majus*); erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*); cavalinha (*Equisetum arvense*); mentastro (*Ageratum conyzoides*); cardo-santo (*Argemone mexicana*); quebra-pedra (*Euphorbia prostata*); guanxuma (*Sida rhombifolia*); gerânio (*Pelargonium zonale*); hortelã (*Mentha piperita*); esporinhas (*Delphinium sp*); alamandra (*Allamanda nobilis*), e ainda os atrativos/repelentes tayuiá (*Cayaponia tayuya*) e eucalipto (*Eucalyptus sp.*) (VIVAN, 2005).

Uma alternativa para diminuir esses problemas é uso de biocarrapaticidas de origem botânica. Os pesticidas botânicos são produtos naturais derivados do metabolismo secundário das plantas. Esse metabolismo produz uma grande diversidade de compostos com ação carrapaticida que podem ser explorados através do uso de óleos essenciais ou como modelo para síntese de pesticidas sintéticos (CAMPOS *et al.*, 2012).

A ampliação dos cuidados e preocupações com os animais de companhia ou de produção está diretamente relacionada com a questão do bem-estar animal e a saúde de ambos. Para garantir a sanidade do animal, é necessário preservar o seu estado de saúde, evitando a transmissão de doenças a outros animais e até mesmo aos seres humanos. Sabe-se também que o uso de fitoterápicos tanto na medicina humana como na veterinária deve-se a algumas vantagens. Dentre elas destacam-se: preço reduzido e menores efeitos colaterais, quando comparados aos medicamentos convencionais (SILVA *et al.*, 2013).

3.2.1 Controle de parasitas

Os extratos vegetais têm mostrado efeitos positivos na produção animal e esses efeitos estão associados aos princípios ativos presentes nas plantas. Os produtos originados de plantas são chamados aditivos fitogênicos, fitobióticos ou nutracêuticos. Os produtos químicos e fármacos sintéticos geralmente causam aumento da resistência dos parasitas e têm um elevado tempo de permanência no ambiente. Os extratos vegetais têm a vantagem de causar um desenvolvimento lento de resistência. Além disso podem ser direcionados a espécies-alvo, são biodegradáveis e são inócuos ao ambiente, diminuindo a emissão de resíduos. Existe a possibilidade de que a toxicidade dos extratos vegetais ocorra a concentrações bastante elevadas e/ou exposição prolongada e em dependência da espécie de peixe em questão. Dessa forma, a toxicidade deve ser um parâmetro testado durante a verificação da eficácia de fitoterápicos (SANTANA *et al.*, 2015).

Para serem consideradas medicinais, pela ciência moderna, as plantas têm que apresentar substâncias de ação farmacológica, que atuem direta ou indiretamente como medicamento. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, são consideradas medicinais as plantas tradicionalmente utilizadas como remédio por uma população ou comunidade, capazes de aliviar ou curar doenças. Quando essas plantas são industrializadas para se obter um medicamento, este é chamado fitoterápico (ANVISA, 2011) (SANTANA *et al.*, 2015).

A perda da eficiência de extratos de plantas, quando testado em animais é, sem dúvida, um obstáculo ao desenvolvimento de alternativas acaricidas. Este problema reflete a dificuldade em controlar os extratos de plantas, devido ao elevado número de compostos químicos presentes. É preciso acrescentar que os produtos naturais mostram baixa persistência no ambiente, por causa da degradação causada pela luz do dia, temperatura, pH e ação microbiana. No entanto, se a complexidade dos componentes e múltiplos modos de ação pode

ser um obstáculo para o uso de extratos de plantas, por outro lado o desenvolvimento da resistência é retardado. Diferenças relacionadas com condições edafoclimáticas e o cultivo e conservação de materiais vegetais para a produção de extrato podem implicar oscilações dos resultados. Mesmo que a síntese de compostos químicos é determinada pelas características genéticas da planta, fatores edafoclimáticos também interferem com este fator. Sendo assim, a composição química de extratos de plantas varia de acordo com a origem da planta (BORGES; SOUZA; BARBOSA, 2011).

A etnoveterinária é a ciência que estuda as práticas populares a favor da saúde e bem estar animal, e que tem como ramo o tratamento de patologias animais a base de plantas medicinais. A adoção das plantas medicinais como tratamento abrange todo o campo animal. As plantas medicinais vêm sendo exploradas e estudadas a fim de solucionar os impactos causados nas culturas por uso de produtos químicos e o aparecimento de doenças (SANTANA *et al.*, 2015).

A resistência do carrapato a um produto carrapaticida pode surgir pelo uso contínuo do produto, há o aumento de indivíduos com essa característica de resistência, uma vez que morrem os sensíveis, não resistentes, e os resistentes acasalam entre si, produzindo descendentes cada vez mais resistentes e em maior número na população. Ou seja, a pressão de seleção aumenta a proporção da população de carrapatos que carregam os genes para estes fatores de resistência. Portanto, os frequentes tratamentos com produtos químicos são um dos principais fatores que aceleram o aparecimento da resistência parasitária (CAMILLO *et al.*, 2009).

No Brasil, de acordo com a resolução nº 89, de 16 de março de 2004, foi criada uma Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos. Nesta lista é encontrada a nomenclatura, formas de uso, indicações e ações terapêuticas, botânica, o nome popular, a parte utilizada, a padronização, dose diária, a via de administração e restrição de uso (ANVISA, 2011).

Uma saída para os problemas de resistência advindos do uso constante de medicamentos tradicionais são as terapias não convencionais, como fitoterapia e homeopatia (GOMES; KOLLER; BARROS, 2011).

O uso de extratos vegetais para controle de carrapatos, especialmente *R. (B). microplus*, parece ser uma alternativa viável, dado o enorme número de plantas com atividade contra este carrapato que já foram encontrados. No entanto, dificuldade na transposição a eficácia obtida do laboratório ao campo é um dos principais obstáculos para sua utilização. Há muitas vantagens de usar extratos vegetais: por exemplo, eles podem ser usados na criação de gado orgânico ou até mesmo substituir acaricidas sintéticas e eles estão associados à menor ambiental e contaminação dos alimentos, mais lento desenvolvimento de resistência e baixa

toxicidade para animais e seres humanos (BORGES; SOUZA; BARBOSA, 2011). A grande maioria das triagens feitas com fitoterápicos é realizada em estudos realizados *in vitro* (no laboratório, avaliando a eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas ou a viabilidade de larvas aos produtos testados (VERÍSSIMO, 2015).

O Brasil só teria a ganhar, principalmente em mercados externos, se os produtos de origem animal, fossem obtidos de uma criação totalmente livre de resíduos químicos-criação orgânica. Justifica-se, portanto, a realização da pesquisa com a finalidade de estender à Medicina Veterinária o uso destes princípios ativos das plantas medicinais, provando cientificamente aquilo que já é conhecido empiricamente: o poder das plantas agindo na cura e manutenção do equilíbrio orgânico e ambiental (AURNHEIMER *et al.*, 2012).

3.2.2 Arruda (*Ruta graveolens*)

A Arruda (*Ruta graveolens*) nativa da região mediterrânea, é uma erva perene de clima temperado a subtropical que não tolera excesso de umidade, considerada planta de pleno sol (BLANCO, 2010; EMBRAPA, 2001)

3.2.2.1 Classificação e características agronômicas

Pertence a Classe Dicotyledoneae, Ordem Rutales e Família Rutaceae e é conhecida popularmente como arruda-fedorenta, arruda- doméstica, arruda-dos-jardins, ruta-de-cheiro-forte e ruda (SIMÕES *et al.*, 1999). É um subarbusto de folhagem densa com odor característico, atinge até 1,5 m de altura; folhas alternas, carnosas, pecioladas, de coloração verde azulada, contendo glândulas oleríferas. As flores são pequenas, amarelo esverdeadas, hermafroditas com pétalas livres entre si, lanceoladas, com brácteas pequenas; ovário súpero com muitos óvulos. O fruto é uma capsula com 4-5 lobos, arredondados; sementes pardas e rugosas (EMBRAPA, 2001).

Não é exigente quanto ao clima. Desenvolve-se melhor em solos ricos em matéria orgânica e bem drenados. Responde bem a adubação nitrogenada em cobertura. A propagação é feita por sementes e estacas. O espaçamento para plantio é de 0,60 x 0,50m. A colheita das folhas é feita quatro meses após o plantio, logo no início da floração, quando ainda estão

fechadas. A secagem das folhas e flores deve ser em local ventilado ou em secador com temperatura máxima de 35° C (folhas) e 30°C (flores) (EMBRAPA, 2001).

3.2.2.2 Constituintes químicos e propriedades farmacológicas

Tem como principais constituintes químicos, alcalóides, ácido salicílico livre, álcool metilnonílico e seus ésteres combinados aos ácidos acético e valeriânico, bergapteno, chalepeusina, cineol, cocusaginina, cumarinas, dulcete, esquiamianina, éter metílico do ácido metilantranílico, fenóis, flavonóides, furocumarina, graveliferona, hesperidina, heterosídeos antociânicos, hidrocarbonetos, hibalactona (na raiz), lactonas, limoneno (raízes, principalmente), matérias resinosas e pépticas, metilnonilcetona, metilnoilcarbinol, óleos voláteis, óleo essencial (0,07 a 0,09%), pineno, -pipeno, psoraleno, quercitina, ribalinidina, rubalinidina, rutacridona, rutilidina, rutilinium, rutamarina, rutamina, rutaretina, rutina, salicilato de metila, xantotoxina (SIMÕES *et al.*, 1999; DIAS *et al.*, 2012).

O princípio ativo da arruda, a rutina, conhecido como Vitamina P, exerce efeitos sobre a permeabilidade capilar dos vasos sanguíneos, sendo também efetivo no combate de endoparasitas e ectoparasitas. Apesar disto, em doses moderadas ainda é utilizada como no combate à gripe, emenagoga, anti-helmíntica, anti-hemorragica, abortiva, carminativa, emoliente, antiespasmódica, analgésica, anti-inflamatória, diaforética, psoríase, estomáquica, estimulante e além do combate a oncomicoses possuem propriedades antiparasitárias (contra sarna e piolhos) (GRANDI *et al.*, 1989; EMBRAPA, 2001; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Alguns autores ainda relataram sua eficiência no tratamento da artrite por *Candida albicans*, atividade antihiperlipidêmica, efeito anticonvulsivante em ratos, supressão da imunidade celular, atividade anticarcinogênica, e efeito anti-inflamatório (BECHO, 2009; MACIEL; PINTO; VEIGA JR., 2001). O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL; PINTO; VEIGA JR., 2001). As principais formas de uso da Arruda (*R. graveolens*): Decocção, infusão, extrato, cataplasma, alcoolato e sumo das folhas misturado com outros sumos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local

Para a realização do experimento foram coletadas, fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* de bovinos, naturalmente infestados, que pertencem ao Hospital Veterinário (HV) da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), situada na cidade de Cruz Alta, região noroeste do RS no período de fevereiro a maio de 2016. Para evitar interferência no teste, foi assegurado que os animais em que as amostras foram coletadas não haviam sido submetidos a tratamento com acaricidas em um intervalo inferior a 30 dias.

4.2 Preparo do extrato de Arruda (*Ruta graveolens*)

O extrato da planta Arruda (*Ruta graveolens*) (Figura 3), foi produzido no Laboratório de Química da UNICRUZ, a partir das folhas e dos caules secundários desta planta, sendo 225gr de arruda *in natura* triturada e depositada em um litro de álcool 70%, este extrato ficou em repouso por 15 dias à luz natural e após este período foi extraído o álcool, passando o mesmo, pelo rotaevaporador, resultando no extrato testado. A solução foi diluída em água destilada, em diferentes concentrações, sendo:

Solução I) água destilada, 10 ml, grupo controle;

Solução II) 10 ml de extrato 100%;

Solução III) 1:1; 10 ml de extrato, diluído em 10 ml de água destilada (50%);

Solução IV) 1:2; 10 ml de extrato, diluído em 20 ml de água destilada (33%)

Solução V) 1:3; 10 ml de extrato, diluído em 30 ml de água destilada (25%).

Figura 3. Arruda (*Ruta graveolens*).

Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

4.3 Bioensaio

Após as duas coletas as fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* de bovinos, foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do HV, para uma seleção e pesagem das mesmas, em balança de precisão. Uma a uma, as teleóginas foram selecionadas, de acordo com o tamanho e higidez, as maiores, mais ágeis e distribuídas nas placas de Petri até totalizar 20 placas com 10 teleóginas cada. As teleóginas foram pesadas, ajustando-se o peso das mesmas, pela substituição de algumas de maior ou menor peso, com o objetivo de uniformizar o peso dos grupos (Tabela 1). O peso médio das teleóginas por grupo foi de 2,21g ($\pm 0,4$). As placas foram identificadas com informações referentes ao extrato, diluição do mesmo e número da repetição.

Tabela 1 - Peso das teleóginas em Gramas.

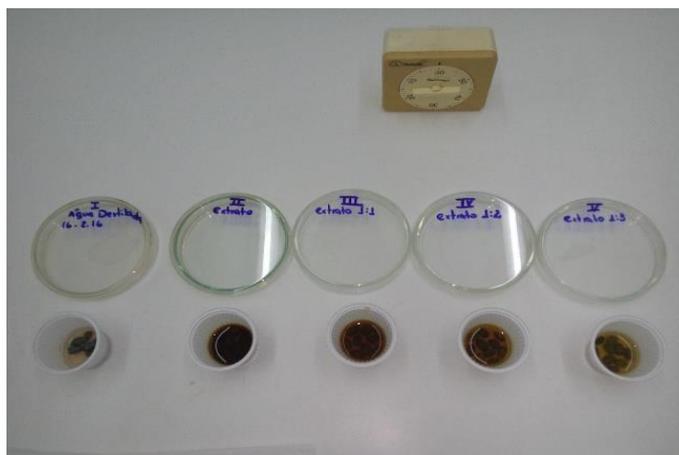
Grupos	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Repetição 4	Média/grupo
Grupo I	2,57 g	1,78 g	2,59 g	2,39 g	2,33g
Grupo II	2,52 g	1,89 g	2,23 g	2,34 g	2,24g
Grupo III	2,54 g	1,61 g	2,1 g	2,23 g	2,12g
Grupo IV	2,56 g	1,82 g	2,13 g	2,21 g	2,18g
Grupo V	2,53 g	1,94 g	2,06 g	2,23 g	2,19g
Média	2,54g	1,80g	2,22g	2,28g	2,21g

4.3.1 Teste *in vitro* com as teleóginas – *Adult Imersion Test*

Antes do início do teste, o extrato foi coado em papel filtro. A metodologia usada foi o teste *in vitro* por imersão de teleóginas, biocarrapaticidograma, no qual foi testado a ação *in vitro* dos extratos das plantas *R. graveolens*, vulgarmente conhecida como arruda, em teleóginas do carrapato *R. (B.) microplus*. As teleóginas foram divididas em cinco grupos (I, II, III, IV e V), cada qual com dez teleóginas e com um peso homogêneo entre cada grupo, sendo realizadas 4 repetições totalizando 200 teleóginas.

Cada grupo foi imerso em 10 ml da solução testada, sendo Grupo I - água destilada, (grupo controle); Grupo II - extrato 100%; Grupo III - extrato 50%; Grupo IV extrato 33,33%; Grupo V extrato 25%, durante 10 minutos (Figura 4), o tempo foi marcado em relógio analógico, sendo as mesmas, homogeneizadas a cada 2 minutos.

Figura 4. Extrato de Arruda (*Ruta graveolens*) em diferentes concentrações.

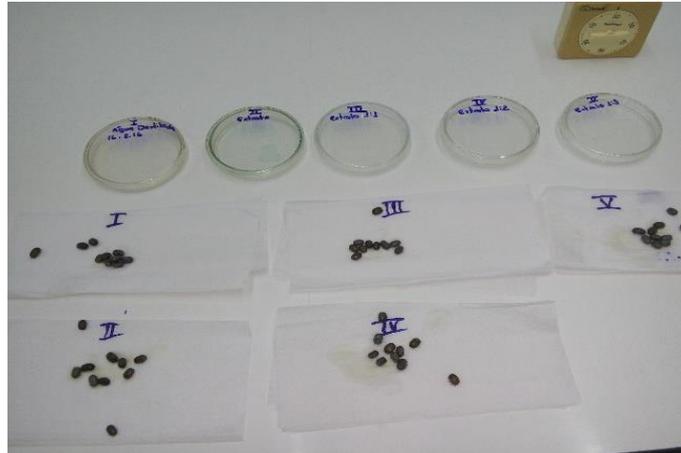


Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

Em seguida as soluções com as teleóginas passou por coador de plástico e imediatamente, todas as teleóginas de cada grupo, foram levemente secas em papel toalha (Figura 5). Na sequência, uma fita adesiva de dois lados foi aderida em cinco placas de Petri e no lado oposto da fita, foram aderidas, em decúbito dorsal, as teleóginas, de forma que o aparelho genital ficasse para cima e o capítulo da teleóquina permanecesse para fora da fita adesiva, cada uma das placas continham um grupo de dez teleóginas (Figura 6), as quais, posteriormente foram levadas para uma câmara climatizada a uma temperatura entre 26 a 27°C e UR em torno de 80% e lá permanecendo até o término da postura. Conforme Gonzales

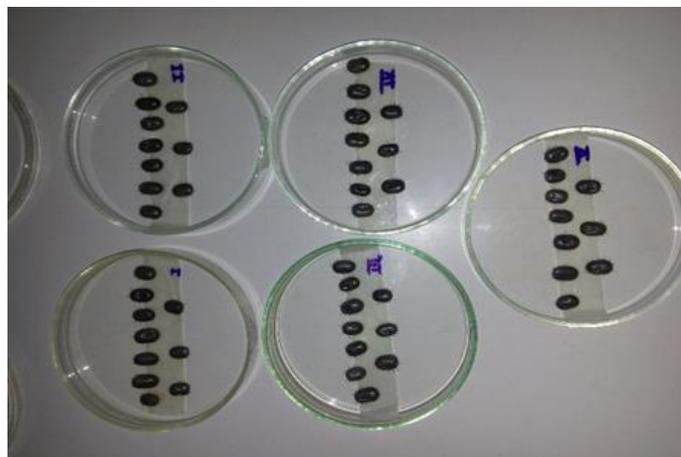
(1975) as condições ideais para a sua evolução são de 26 a 27°C e UR superior a 70%, qualquer variação a mais ou a menos desses valores interferem no seu processo biológico.

Figura 5. Teleóginas secas em papel toalha após imersão no extrato testado.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

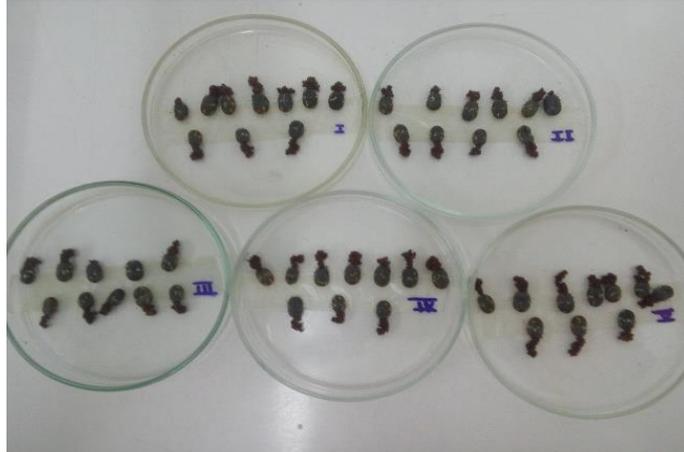
Figura 6. Teleóginas dispostas em cinco placas de Petri, cada uma contendo dez exemplares.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

Aos vinte dias do início da postura das teleóginas (Figura 7), com uma espátula ou um pincel, foram reunidos todos os ovos das dez teleóginas de cada placa de Petri (Figura 8) e assim transferidos para recipientes devidamente identificados para a pesagem dos ovos em balança de precisão (Figura 9):

Figura 7. Ovipostura, vinte dias do início da postura das teleóginas.



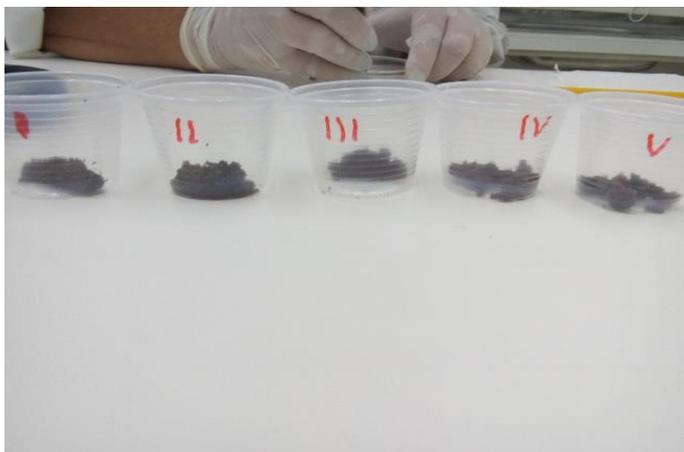
Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

Figura 8. Reunião de todos os ovos das dez teleóginas de cada placa de Petri.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

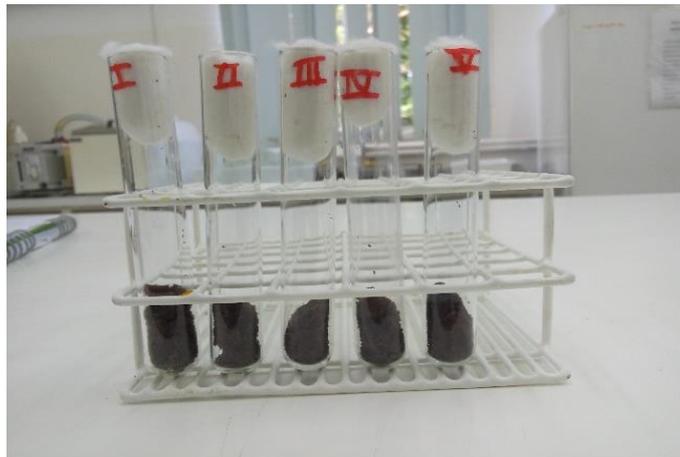
Figura 9. Ovos transferidos para recipientes de plástico devidamente identificados para a pesagem dos ovos.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

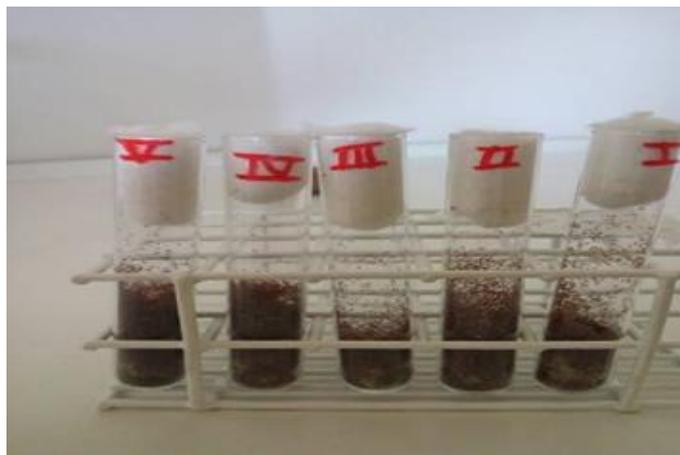
Depois da pesagem das massas de ovos, os mesmos foram transferidos para cinco tubos de ensaio de vidro, com capacidade para 10ml, que foram fechados com algodão hidrófilo e devidamente identificados (Figura 10) e levados novamente para a câmara climatizada e lá permaneceram até a eclosão das larvas de carrapatos *R.(B.) microplus* (Figura 11).

Figura 10. Ovos transferidos para cinco tubos de ensaio de vidro, com capacidade para 10ml, que foram vedados com algodão hidrófilo e devidamente identificados.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

Figura 11. Eclosão das larvas de carrapatos *R. (B.) microplus*.



Fonte: FRANCO, M. P., 2016.

Quinze dias após o início da eclosão dos ovos de cada grupo de teleóginas, foi então feita a análise visual do percentual de eclosão dos ovos de cada grupo. Posteriormente com os dados da eclosão, a Eficiência Reprodutiva (ER) e a Eficiência do produtos (EP) foram calculados.

A eficácia do produto, em suas diferentes concentrações, foi calculada segundo Drummond *et al.* (1973); MAPA(1997).

$$ER = \frac{\text{Peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20000}{\text{Peso das fêmeas}}^*$$

ER= eficiência reprodutiva

*= número de larvas que se tem, teoricamente, em um grama de ovos.

$$EP = \frac{ER \text{ controle} - ER \text{ tratado} \times 100}{ER \text{ controle}}$$

EP= eficiência do produto

4.4 Análise estatística

Os resultados são apresentados como a média (\pm SEM). As diferenças entre as médias foram comparadas por One-Way análise da variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, quando apropriado, utilizando o programa Graphpad Prism. Valores de P inferior a 5% foram considerados como sendo estatisticamente diferentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta planta foi selecionada devido a sua vasta utilização na medicina humana, de fácil plantio, baixo custo e por ser perene, podendo assim produzir por uma década ou mais, além de serem abundantes no RS, Brasil. No sentido de localizar plantas com ação acaricida, os extratos foram avaliados através do teste de imersão de fêmeas ingurgitadas. Esse teste tem sido utilizado para detectar a resistência dos acaricidas, e nos últimos anos têm sido amplamente empregado para avaliar a eficácia dos fitoterápicos. A utilização de produtos naturais e o controle biológico no combate aos carrapatos apresentam maior segurança, baixo custo, boa eficácia, nenhum dano ao ecossistema e à saúde humana (FURLONG, 1993).

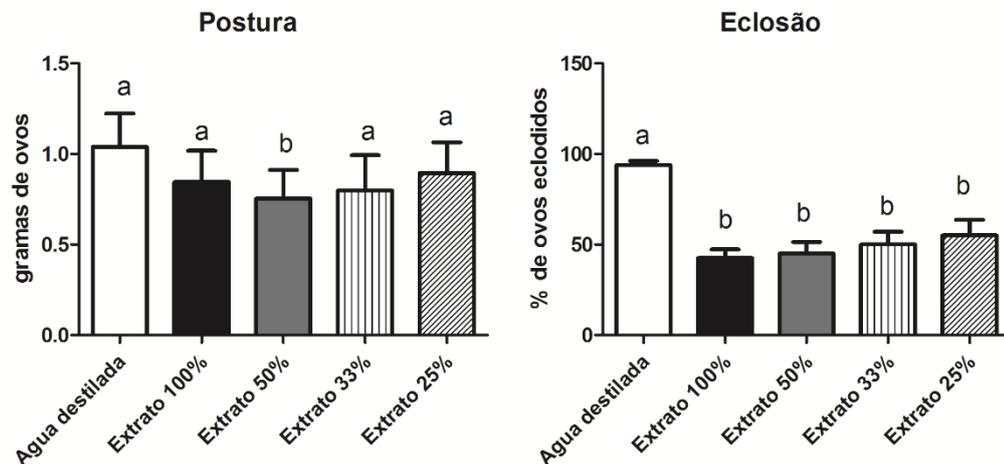
Através do teste de imersão em teleóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos foi possível observar que o extrato de Arruda (*R. graveolens*) foi capaz de inibir a postura (oviposição) das fêmeas no Grupo III quando utilizada o extrato na (concentração de 50%) (Figura 12, $P < 0,05$). Nas outras doses do extrato (100, 33 e 25%), ocorreu uma tendência a redução da postura ($P = 0,062$).

Quando analisada a taxa de eclosão dos ovos, pode ser observada que todas as doses testadas dos extratos (Grupo II, III, IV e V) apresentaram menor porcentual de eclosão de ovos quando comparado ao Grupo I (controle), (Tabela 2). Não foi observada diferença significativa na eclosão dos ovos entre as diferentes doses do extrato de arruda testadas. Média de eclosão dos ovos dos grupos II (42,50%), III (45%), IV (50%) e V (55%).

Tabela 2 -Percentual de Eclosão (%) Análise visual

Grupos	Abril/16 Repetição 1°	Maio/16 Repetição 2°	Maio/16 Repetição 3°	Maio/16 Repetição 4°
I	90	95	90	80
II	50	30	50	40
III	50	40	30	60
IV	60	60	30	50
V	80	50	50	40

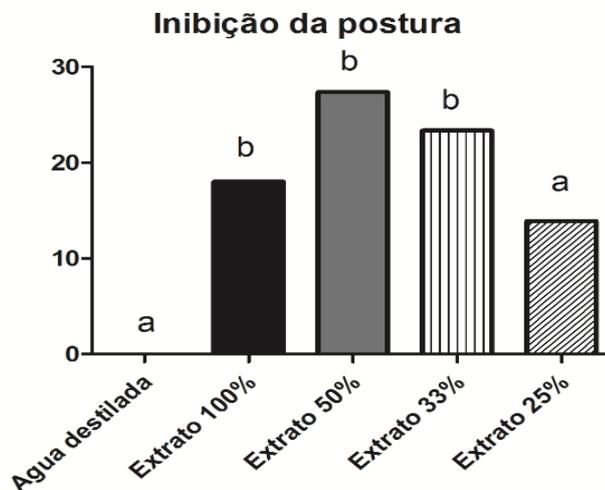
Figura 12. Médias das posturas (peso de ovo) e taxas de eclosão, analisados *in vitro*, utilizado diferentes concentrações do extrato de Arruda (*R. graveolens*) em teleóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos pela técnica de imersão de teleóginas.



Valores de P inferior a 5% foram considerados como sendo estatisticamente diferentes. Letras diferentes representam diferença estatística. One-Way análise da variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey.

Na avaliação da inibição da postura, conforme mostra a Figura 13, pode ser observado que o extrato de arruda, nas concentrações 100, 50 e 33% apresentaram melhores resultados quando comparados ao extrato na concentração de 25% e a solução controle.

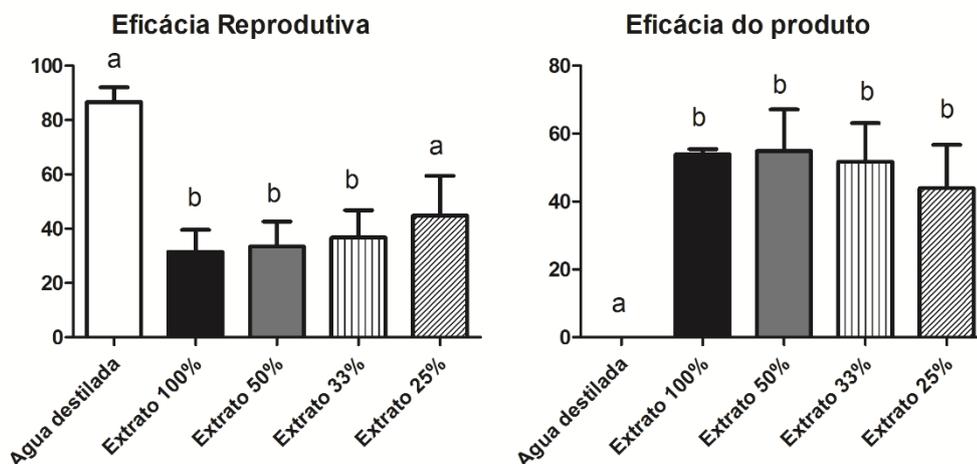
Figura 13. Avaliação da inibição das posturas, analisados *in vitro*, utilizando diferentes concentrações do extrato de Arruda (*R. graveolens*) em teleóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos pela técnica do biocarrapatidograma.



Valores de P inferior a 5% foram considerados como sendo estatisticamente diferentes. Letras diferentes representam diferença estatística. One-Way análise da variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (n=40 por grupo).

A eficiência reprodutiva está demonstrada na Figura 14. No Grupo II, III e IV o extrato de arruda foi capaz de inibir as fases da reprodução estimada das fêmeas ingurgitadas, sendo que, esse efeito não foi evidenciado no Grupo V e sim nos grupos: II (31,43%), III (33,37%), e IV (36,68%). No entanto, quando analisada a eficácia do produto (Figura 14) nas concentrações 100%, 50%, 33% e 25% em teleóginas ingurgitadas do carrapato *R. (B.) microplus*, é possível comprovar que o extrato de arruda possui efeito carrapaticida, não sendo observada diferença estatística entre as diferentes concentrações testadas do extrato, onde foi encontrado o seguinte resultado por grupo: II (53,89%), III (54,92%), IV (51,71%) e V (43,90%).

Figura 14. Análise da eficácia reprodutiva e eficácia do produto utilizado diferentes concentrações do extrato de Arruda (*R. graveolens*) em teleóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos utilizado técnica de imersão de teleóginas.



Valores de P inferior a 5% foram considerados como sendo estatisticamente diferentes. Letras diferentes representam diferença estatística. One-Way análise da variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (n=40 por grupo).

Ressaltamos que a portaria no 48, de 12 de maio de 1997, da Secretaria de Defesa Agropecuária, que aprova o Regulamento Técnico para Licenciamento e/ou Renovação de Licença de Produtos Antiparasitários de Uso Veterinário, determinou que no Teste de Eficácia para Carrapaticidas, o produto deve apresentar uma eficácia de no mínimo 95% para obter a aprovação (BRASIL, 1997). Contudo, Centro Mundial de Referência para a Resistência a Acaricidas (WARRC), da Organização Mundial para Alimentos e Agricultura (FAO) preconiza como 80,00% de eficácia um excelente resultado.

Com a análise conjunta dos resultados, acreditamos que, apesar da Arruda (*R. graveolens*) utilizada na forma fitoterápica do extrato da planta, não apresentar a eficiência desejada, no controle de eclosão dos ovos das teleóginas de *R. (B.) microplus*, pode levar a redução no número de carrapatos nos animais. Nesse contexto, a fitoterapia surge como uma alternativa importante no controle de parasitas, podendo reduzir os impactos econômicos e ambientais ao uso de pesticidas sintéticos.

Nas últimas décadas, extratos de plantas têm sido utilizados como uma forma alternativa contra ectoparasitas, pois possuem maior seletividade e causam menor dano a organismos não alvos, possuem menor toxicidade ao meio ambiente e são reconhecidamente mais específicos. Além disso, podem levar a uma redução de carrapaticidas químicos nas propriedades, reduzindo custos e melhorando o efeito do produto. Alguns extratos de plantas ou fitoquímicos são mais efetivos contra organismos resistentes a diferentes compostos inseticidas e/ou acaricidas, provavelmente por apresentarem diferentes mecanismos de ação, relacionado ao fato de que no extrato da planta

estão presentes vários compostos responsáveis pela ação carrapaticida (SILVA FILHO, 2013; SANTANA *et al.*, 2015). Diversos estudos contemporâneos avaliam as potências ações antiparasitárias de diferentes fitoterápicos através de testes *in vitro* e *in vivo*, em especial aqueles voltados para o controle de ectoparasitas, com destaque para os carrapatos e outros ácaros (BORGES *et al.*, 2011).

Este resultado discorda com o observado por Clemente *et al.* (2007), onde extratos vegetais de *R. graveolens* não apresentaram eficiência acaricida em nenhuma das quatro concentrações testadas (6,25%, 12,5%, 25% e 50%), tanto em larvas quanto em fêmeas, talvez devido a baixa concentração dos extratos testados. Já o resultado deste trabalho corrobora com o encontrado por Costa Junior (2014), o mesmo acredita que o extrato etanólico de folha de *R. graveolens*, apresentou controle parcial em teleóginas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* em ensaios *in vitro*.

Nas últimas décadas, extratos de plantas têm sido amplamente utilizados contra ectoparasitas, pois possuem maior seletividade e causam menor dano a organismos não alvos e são reconhecidamente mais específicos. Alguns extratos de plantas ou fitoquímicos são mais efetivos contra organismos resistentes a diferentes compostos inseticidas e/ou acaricidas, provavelmente por apresentarem diferentes mecanismos de ação, relacionado ao fato de que no extrato da planta estão presentes vários compostos responsáveis pela ação carrapaticida (SILVA FILHO, 2013).

Várias atividades da rutina, um dos princípios ativos da *Ruta graveolens*, vem sendo elucidados, esta também conhecida como Vitamina P, sabe-se que exerce efeitos sobre a permeabilidade capilar dos vasos sanguíneos, sendo também efetivo no combate de endoparasitas e ectoparasitas, mas não se sabe corretamente o modo de ação deste princípio ativo. Segundo Silva Filho (2013), o efeito tóxico do material vegetal pode ser oriundo dos odores produzidos após a maceração dos constituintes celulares, que repelem ou prejudicam as larvas, afetando o desenvolvimento para o estágio adulto e a conseqüente morte. É importante a investigação do extrato bruto, etanólico e aquoso, pois algumas plantas possuem mais de um constituinte químico, como princípio ativo, responsável pela atividade biológica, ou seja, atividade acaricida. Com o fracionamento desses extratos, observa-se redução ou inativação da atividade biológica de alguns constituintes químicos.

A superpopulação de carrapatos juntamente com o intenso uso dos acaricidas vem submetendo as populações a uma forte pressão, levando a uma seleção de indivíduos resistentes como também ocorrem perdas relacionadas à bovinocultura em si, existem diversos prejuízos relacionados à mão-de-obra necessária para o controle desse parasito,

despesas com instalações, compra de acaricidas e equipamentos adequados para sua aplicação, entre outros (FREITAS, 2006).

Este fenômeno encontra-se em curva crescente em todas as regiões onde o *R. (B.) microplus* encontra condições favoráveis ao seu desenvolvimento, notadamente nas áreas tropicais. A seleção de populações de carrapatos resistentes aos diferentes princípios químicos que vem sendo utilizados gera um ciclo vicioso por estar sendo selecionadas populações resistentes. Desta forma há uma necessidade de utilizar acaricidas com diferentes composições e associações em um curto período de tempo o que acaba ainda mais as populações (SANTANA *et al.*, 2009). Deve-se destacar também que o *R. (B.) microplus* pode apresentar resistência mais rapidamente que outros carrapatos, provavelmente, pelo menor período de tempo entre as gerações (SANTANA *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2009).

6 CONCLUSÃO

Este experimento mostrou que a ação *in vitro* do extrato da Arruda (*Ruta graveolens*), através do teste de imersão de teleóginas do carrapato *R. (B.) microplus*, apresentou um resultado promissor, no controle de eclosão dos ovos das mesmas, reduzindo em mais de 52,11% (concentração 50%) da taxa de eclosão, como também a utilização deste fitoterápico, poderá levar a redução no número de carrapatos nos animais.

Observou-se que o extrato testado nas concentrações 100,50 e 33% obtiveram um bom resultado em relação a redução da média das posturas (peso de ovos), baixa taxa de eclosão, ocorreu inibição parcial da postura, como também foi capaz de inibir as fases da reprodução estimada das teleóginas.

No entanto, quando analisada a eficácia do produto nas concentrações utilizadas, é possível comprovar que o extrato de arruda possui efeito carrapaticida, não sendo observada diferença estatística entre as diferentes concentrações testadas do extrato.

Demonstrando assim, que este fitoterápico possui potencial para pesquisa como agente terapêutico. Novas pesquisas são necessária para isolamento dos princípios ativos da planta, para obtenção de um produto mais específico e análise da via de ação.

Com estes resultados acredita-se que novos experimentos com esta planta, seria de grande importância para o controle deste carrapato, na bovinocultura, tanto de leite como de corte, podendo possuir um uso promissor como um controle fitoterápico alternativo e de baixo custo.

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; MATIAS, J.; BARROS, J. C.; CUNHA, R. C.; Tagetes minuta – **Uma nova alternativa no controle fitoterápico de carrapatos** [recurso eletrônico]. - Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2014. 30 p.; 21cm. - (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X; 207). Disponível em: <http://old.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC207.pdf> Acesso em 17/02/16.

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; REIS, F. A.; RODRIGUES, V. S.; BARROS, J.C.; **Proposta de controle de carrapatos para o Brasil Central em sistemas de produção de bovinos associados ao manejo nutricional no campo** [recurso eletrônico] / Renato Andreotti et al. - Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2016. 34 p.; 21cm. - (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X; 214). Disponível em: <http://old.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC214.PDF> Acesso em 28/10/16.

ANVISA; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Formulário Nacional de Fitoterápicos**, 2011.

AURNHEIMER, R.C.M.; PEREIRA, M. A. V. C.; VITA, G.F.; DAMAS, S.L., Eficácia *in vitro* de *Ruta graveolens*, nas formas fitoterápica e homeopática, para o controle de carrapatos. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 28, n. 2, p. 122-127, 2012.

BAFFI, M. A. **Esterases e resistência a acaricidas no carrapato bovino *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae)**. 2006. 113 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. O.; Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1, n. 1, p. 21 - 25, 2009.

BIEGELMEYER, P., NIZOLI, L.Q., CARDOSO, F.F. e DIONELLO, N.J.L. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *R. (B.) microplus*. **Arquivos Zootecnia**, v. 61, p. 1-11, 2012.

BLANCO, R. A.; Arruda, 2010. Disponível em: <http://www.jardimdeflores.com.br/ERVAS/A05arruda.htm>. Acesso em: 13/3/16.

BORGES, L. M. F.; SOUZA, L. A. D.; BARBOSA, C. S.; Perspectivas para o uso de extratos de plantas para o controle carrapato de bovinos *R. (B.) microplus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, 2011.

BROGLIO-MICHELETT S.M.F., DIAS N.D.S., VALENTE E.C.N., SOUZA L.A.D., LOPES D.O.P., SANTOS J.M.D. Action of extract and oil neem in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887)(Acari: Ixodidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 19: 44-48, 2010.

BROWN, W.C.; NORIMINE, J.; KNOWLES, D.P.; GOLFF, W.L.; Immune control of *Babesia bovis* infection. *Vet Parasitol*, 138, p.75-87,2006.

CAEIRO, V.; **Reflexão sobre a taxonomia actual dos Ixodidae. A sistemática morfológica versus sistemática molecular - o género *Rhipicephalus* e o género *Boophilus***; *Revista Portuguesa Ciências Veterinárias*. v. 101, p. 557-558. 2006.

CAMILLO, G.; VOGEL, F. F.; SANGIONI, L.A.; CADORE, G.C.; FERRARI, R. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 490-495, 2009.

CAMPOS, R.N.S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A.P.A.; BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTOS, G.R.A.; RONEER, M.N.B. **Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus***. *Arch. Zootec*, v.1, p. 67-78, 2012.

CHAGAS, A. C. S. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG, 2004. Disponível em: http://www.rbpv.ufrj.br/documentos/1302004/po13s1156_160.pdf. Acesso em: 16/12/16.

CLEMENTE, M. A.; GOMES, F.T.; SCOTTON, A.C.B.S.; GOLDNER, M.S.; REIS, E.S.; ALMEIDA, M.N.; Avaliação do Potencial de Plantas Medicinais no Controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 516-518, 2007.

CORDOVÉS, C.O. Carrapato: controle ou erradicação. 2 ed. Guaíba: Agropecuária, 130p. 1997.

COSTA JUNIOR, R. G.; SANTI, F. M.; BUKOWSKI, S. S.; SOUZA, K. A.; MATOS, C. A.; GORDIN, L. W. **Uso de Extratos de Plantas no Controle de *R. (B.) microplus* em Ensaios in vitro**. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – V 9, p. 4, 2014.

COSTA, F.B.; VASCONCELOS, P.S. DA S.; SILVA, A.M.M.; BRANDÃO, V.M.; SILVA, I.A. DA; TEIXEIRA, W.C.; GUERRA, R.M.S.N.; DOS SANTOS, A.C.G; Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n. 1, p. 83-86, 2008.

DANTAS E. P.M., **Prospecção de biocida em plantas amazônicas e exóticas, visando seu uso racional**; Dissertação de Mestrado, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Amazonia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, 2009.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Mediciniais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Editora UNESP. 2. ed. São Paulo, 2002. 592P.

DIAS L.; RESENDE C.; PINTO C.; CLEMENTE J.; ALONSO J.; GONÇALVES R.; SANTOS P.; VENTURA. LIVRO DE GRAVEOLENS L., Jornadas de Farmácia, **Farmácia de Hoje, Fármacos de Amanhã**. ESSa- IPB|LIVRO DE ACTAS,2012.

DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J.; WHESTONE, T.M.; ERNEST, S.E. Laboratory testings of insecticides for control of the winter tick. **Journal of Economy Entomology**, v. 64, p. 686-688, 1973.

DRUMOND, R.O. ERNST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAN, O.H.; *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory Tests of insecticides. **Journal Economic Entomology**. v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.

ECKSTEIN, C.; CAMPOS, A. K.; LOPES, L.B.; MALUF, J. M.; SOARES, E. J.; KACHIYAMA, J.B.; **Eficácia in vitro de acaricidas comerciais indica resistência de populações de *R. (B.) microplus* na região norte do Mato Grosso**-Scientific Electronic Archives Issue ID: Sci. Elec. Arch. 9:1 (2016) February 2016 Article link: http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=210&path%5B%5D=pdf_75 Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES. Acesso em 01/3/16.

EMBRAPA; **ARRUDA (*Ruta graveolens*) Folder 05- Série "Plantas Mediciniais**, Porto Velho, RO, dezembro de 2001.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Module 1. **Ticks: acaricide resistance: diagnosis management and prevention**. In: Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Rome: FAO Animal Production and Health Division, 2004.

FARIAS, N. A. R.; **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina** – Guaíba: Agropecuária,80p. 1995.

FLETCHMANN, C.H.W.; **Ácaros de importância médico veterinária**. 3a ed. Editora Nobel. São Paulo. Brasil. 185 p.,1990.

FREITAS, D. R. J.; **Caracterização de resposta a estresse oxidativo e mecanismos de morte celular em *Boophilus microplus***; Porto Alegre, RS, 2006.Tese (Doutorado)-Laboratório de Imunologia Aplicada à Sanidade Animal do Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul – UFRGS.

FURLONG, J. **Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil**. Caderno Técnico da Escola de Veterinária, UFMG, n.8, p.46-61, 1993.

FURLONG, J. **Controle estratégico de endo e ectoparasitos em bovinos de leite na região do Brasil-Central**. In: Bressan, M., Martins, C.E., Vilela, D. Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil. Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora. Minas Gerais. pp. 165-174, 2000.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R.; PRATA, M. C. A.; **O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?** A Hora Veterinária – Ano 27, n. 159, setembro/outubro/2007.

GODOI, C.R.; SILVA, E.F.P. **Carrapato *Boophilus microplus* e impacto na produção animal - Revisão de literatura**, PUBVET, Londrina, v. 3, n. 22, 2009.

GOMES, A.; Controle do carrapato do boi: um problema para quem cria raças européias. **Embrapa** Campo Grande, MS, n. 31, agosto ,1998.

GOMES, A.; KOLLER, W.W.; BARROS, A.T.M., **Suscetibilidade de *R. (B.) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil**. Ciência Rural. v. 41, n. 8. 2011.

GONZALES, J. C.; **O controle do carrapato dos bovinos**. Porto Alegre, Ed. Sulina 104p. 1975.

GRANDI, T. S. M.; TRINDADE, J. A.; PINTO, M. J. F.; FERREIRA, L. L.; CATELLA, A. C.; **Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil**. Acta Botânica Brasileira, v. 3, n. 2, supl. 1. 1989.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, abr./jun. 2014.

HOCAYEN, P.A.S.; PIMENTA, D.S. **Extrato de plantas medicinais como carrapaticida de *R. (B.) microplus***. Revista brasileira de plantas medicinais. v. 15, n. 4. Supl. 1. 2013.

JUNIOR, I. K.; **Por que o seu tratamento contra o carrapato pode estar falhando!** Informativo técnico N° 05, ano 06; Maio/2015; Departamento de defesa agropecuária da Secretaria estadual da agricultura e pecuária/RS. Disponível em:http://www.dda.agricultura.rs.gov.br/ajax/download.php?qArquivo=20150602111733controle_do_carrapato_no_rs_biocarrapaticidograma.pdf. Acesso em: 14 de nov. de 2015.

MACIEL M. A. M.; PINTO A. C. e VEIGA Jr. V. F. **Plantas Medicinais: A necessidade de estudos Multidisciplinares**, 2001. Disponível em: http://scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-404220020003000167&Ing=es7nrm=is. Acesso em 15 de abr. de 2016.

MAPA, Ministério da Agricultura. Portaria n. 90 de 04 de dezembro de 1989. **Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários**. Diário Oficial, 22 janeiro, sec. 1, col. 2, 1990.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 1, p. 169-172. 2003.

NUNES, O.V.C.; VEIGA, A.P.A.; RODRIGUEZ, T.J.; CLAUS, M.P.; MILCZEWSKI, V.; SOUZA, A.P.; SOUZA, A.L.F.; **Determinação da resistência de carrapatos *R. (B.) microplus* a acaricidas do rebanho do Instituto Federal Catarinense– Araraquari/SC-VIII MICTI Mostra Nacional de iniciação científica e tecnológica interdisciplinar –Instituto federal catarinense-11 12 de novembro/2015**. Disponível em:<http://eventos.ifc.edu.br/wp-content/uploads/sites/5/2015/10/DETERMINA%20C3%87%20C3%83ODARESIST%20C3%8ANCIA-DE-CARRAPATOS-Rhipicephalus-Boophilus-microplus-A-ACARICIDAS-DOREBANHODO-INSTITUTO-FEDERAL-CATARINENSE-ARAQUARI-SC.pdf>. Acesso em 03 de abr. de 2016.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA M. B.; ***R. (B.) microplus***. Cap. 03; *R. (B.) microplus*: Biologia, controle e resistência; São Paulo, MedVet, p. 26-28, 2008.

PESSOA, F. F.; **Autolimpeza de novilhas holandesas após infestação artificial com larvas de carrapato *Rhipicephalus microplus***. Nova Odessa, SP: 2014. 37 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Zootecnia. APTA/SAA. 2014.

POWELL, R.T.; REID, T.J. **Project tick control**. Queensland Agricultural Journal, v.108, n.6, p.279-300, 1982.

POZZATTI, P.N.; PORFIRIO, L. C.; CASAGRANDE, F. P.; VALENTIM, T. P.; BISSI, B.; BARBOSA, B. C.; **Avaliação da *Melia azedarach* sobre carrapatos de bovinos em biocarrapaticidograma**. PUBVET, Londrina, v. 6, v. 2, ed. 189, Art. 1272, 2012.

RAMOS, R.A.N.; SANTANA, M.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C. **Avaliação da resistência a acaricidas em populações de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) provenientes de diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco**. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/r0897-1.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2016.

RAYNAL, J. T.; SOUZA, B.C.; SILVA, A.B.; BAHIANSE, T.C.; SILVA, H.C.; MEYER, R.; PORTELA, R.W.; **Resistência do carrapato *R. (B.) microplus* a acaricidas**. Revista Portuguesa de Ciências. v. 110, p. 593-594. 2015.

ROCHA FILHO, J. T. R. **Avaliação da eficiência de acaricidas sobre *R. (B.) microplus* no Estado da Bahia / Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2014.**

RODRIGUES D.S., LEITE R.C. **Economic impact of *R. (B.) microplus*: estimate of decreased milk production on a dairy farm**. Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia, 65:5, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260769485_Economic_impact_of_Rhipicephalus_B_oophilus_microplus_estimate_of_decreased_milk_production_on_a_dairy_farm . Acesso em 14/ /16.

RORATO, C. O.; MARCELINO, C. G.; DEBIAGE, R. R.; SILVA, R. M. G.; PEIXOTO, E. C. T. M. **Nova abordagem acaricida a partir da utilização do extrato pirolenhoso na pecuária brasileira**. V Jornada de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Norte do Paraná, “Descobrimo a ciência”, Campus Luiz Meneghel, 2015.

SANTANA, D. C.; SOUZA, T. S.; PIERRO, P. C. C.; AMARAL, A. A. **Uso de plantas medicinais na criação animal**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 2015.

SANTANA, M.A.; RAMOS, R.A.N; FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C. **Avaliação da resistência a acaricidas em populações de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) provenientes de diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco.** Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/r0897-1.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2016.

SILVA FILHO, M.L.; SILVA, L.B.; FERNANDES, R.M.; LOPES, G.S. **Efeito do extrato aquoso e etanólico do angico preto sobre larvas de *R. (B.) microplus*.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 65, n. 3. 2013.

SILVA, F.F.; SOARES, M.C.S.C.; ALVES, L.C.; LIMA, M.M.; SILVA, L.V.A.; FAUSTINO, M.A.G.; SILVA JUNIOR; F.F.; **Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma.** Medicina Veterinária, Recife, v.2, n.3, p.1-8, 2008.

SILVA; W.M.O.; SOUZA; G.F.X.T.; VIEIRA; P.B.; SANAVRIA; A. **Uso popular de plantas medicinais na promoção da saúde animal em assentamentos rurais de Seropédica – RJ;** Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 20, n. 1, p. 32-36. 2013.

SILVA M.C.L., SOBRINHO R.N., LINHARES G.F.C. Avaliação in vitro da eficácia do clorfenvinfós e da cialotrina sobre o *Boophilus microplus*, colhidos em bovinos da bacia leiteira da microrregião de Goiânia, Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, 1:143-148, 2000. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/244/216> Acesso em 15/12/2016.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 821p., 1999.

SOUZA, J. R.; FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções.** Embrapa; Juiz de Fora-MG. Capítulo 2 - Os carrapatos, os carrapaticidas e a resistência. 2005.

UENO, T.E.H.; MENDES, E.E.B.; POMARO, S.H.K.; LIMA, C.K.P.; GUILLOUX, A.G.A.; MENDES, M.C.; Sensitivity profile of *Rhipicephalus(Boophilus) microplus* ticks of dairy cattle to acaricides in small farms in the northwestern São Paulo State, Brazil. **Arq. Inst. Biol.** v. 79, n. 2. 2012.

VERÍSSIMO, J. C. **Resistência e controle do carrapato-do-boi / Organização:** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 135p., 2015.

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