

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ - UESC  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ARACELE VIEIRA SANTOS

EFEITO “*IN VITRO*” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta*)  
(MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM (*Azadirachta indica*) E DO ÓLEO DE  
CRAVEIRO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus*  
(*Boophilus*) *microplus*

ILHÉUS – BAHIA  
2009

**ARACELE VIEIRA SANTOS**

**EFEITO “*IN VITRO*” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta*)  
(MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM (*Azadirachta indica*) E DO ÓLEO DE  
CRAVEIRO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus*  
(*Boophilus*) *microplus***

Dissertação apresentada, para obtenção do título  
de Mestre em Ciência Animal, à Universidade  
Estadual de Santa Cruz

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. George Rêgo Albuquerque

**ILHÉUS-BAHIA  
2009**

**ARACELE VIEIRA SANTOS**

**EFEITO “*IN VITRO*” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta*)  
(MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM (*Azadirachta indica*) E ÓLEO DE  
CRAVEIRO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus*  
(*Boophilus*) *microplus***

Ilhéus – BA, 24/04/2009

---

George Rêgo Albuquerque – Dr.  
UESC/DCAA  
(Orientador)

---

Maria Angela Ornelas de Almeida – Dra  
UFBA/EV

---

Dunezeu Campos Júnior – Dr.  
UESC/DCAA

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a todos que como eu acredito na construção de mundo mais sustentável e em prol da saúde pública.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela presença constante e por todos os milagres, pela aprovação no Mestrado e na prova de inglês. Toda honra e toda glória seja dada ao Senhor Deus Todo Poderoso.

Aos meus pais, Teneildes e João Carlos. Foram vocês que com grandes dificuldades deram as maiores jóias que um filho pode receber: a vida, o amor e a educação. Pelo apoio e estímulo na busca pelos meus sonhos.

Aos irmãos Leo e a pequena Kate pelos momentos de alegria e o suporte em meio à distância, e aos sobrinhos Ellen e Luis Fellipe por cada sorriso.

Ao amado Fernando pelo incentivo, por fazer-se sempre presente mesmo estando distante.

Ao meu estimado professor e orientador George. Mestre no mais fiel sentido da palavra. Pessoa que me aceitou sem ao menos conhecer-me, por acreditar na minha pesquisa e pelo seu desempenho. Pela imensa capacidade de compreensão nos momentos difíceis e duros da vida, pelos ensinamentos, serenidade e sinceridade.

Ao Pastor Deodete do Grupo Bertin, pelas orações constantes e pelo auxílio na obtenção dos carrapatos para a realização do meu experimento.

A todos os amigos pelo incentivo e apoio, a Gildeon em especial, por abrir as portas de sua casa na minha chegada a UESC e a Luciana pelo apoio com as traduções dos artigos.

Aos colegas e também amigos Patrícia, Manuela e Fernando pela disponibilidade e cumplicidade que fizeram com que convivêssemos em harmonia nestes dois anos.

Aos professores Dunezeu e Rosilene, pelas suas considerações e sugestões que foram fundamentais para realização desse trabalho.

Á FAPESB pela bolsa de estudo.

**EFEITO “IN VITRO” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta*) (MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM (*Azadirachta indica*) E DO ÓLEO DE CRAVEIRO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

**RESUMO**

O estudo teve como objetivo avaliar o efeito “*in vitro*” do resíduo líquido da mandioca (*Manihot esculenta*), (manipueira), do extrato do nim (*Azadirachta indica*), e do óleo essencial de craveiro da Índia (*Syzygium aromaticum*) sobre o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A manipueira foi obtida no processamento da mandioca em agroindústria, os extratos do nim foram obtidos das folhas frescas da planta utilizando os solventes água destilada e etanol P.A e o óleo foi obtido de frutos do Craveiro-da-Índia pelo processo de hidroestilação. Para experimentações com a manipueira, foram utilizadas diluições em água de 25, 50, 75 e pura (100%), para os extratos, aquoso e etanólico do nim, as concentrações foram a 10 e 50%, e o óleo essencial de cravo a 2,5 e 5%, sendo testadas em teleóginas pelo teste biocarrapaticidograma. A eficácia observada, em média, foi de (24,05; 34,93; 57,45 e 82,53%); (15,04; 20,05; 52,94 e 74,39); (97,15 e 99,42%), respectivamente. Os resultados sugerem o óleo de cravo pode ser empregado no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A manipueira pura e o extrato etanólico a 50% apresentaram um efeito parcial sobre as teleóginas, no entanto, não o suficiente para o controle.

**Palavras-chave:** carrapato de bovino, teleóginas, fitoterápicos, extratos vegetais

**EFFECT "IN VITRO" OF LIQUID WASTE OF CASSAVA (*Manihot esculenta*) (MANIPUEIRA) OF EXTRACT OF NEEM (*Azadirachta indica*) AND OIL-CLASS-OF-INDIA (*Syzygium aromaticum*) on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

**ABSTRACT**

The study aimed to evaluate the effect "in vitro" of the liquid residue from cassava (*Manihot esculenta*), (manipueira) of extract of neem (*Azadirachta indica*), and the essential oil of carnation in India (*Syzygium aromaticum*) on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The manipueira was obtained in the processing of cassava in agribusiness, the extracts of neem were obtained from fresh leaves of the plant using solvents distilled water and ethanol PA and the oil was obtained from the fruit-of-India Craveiro the process of hidroestilação. For experiments with manipueira were used diluted in water, 25, 50, 75 and pure (100%) to the extracts, aqueous and etanóico of neem, the concentrations were 10 and 50%, and the essential oil of clove to 2 , 5 and 5%, being tested in teleóginas by biocarrapaticidograma test. The efficacy observed on average was (24.05, 34.93, 57.45 and 82.53%) (15.04, 20.05, 52.94 and 74.39) (97.15 and 99.42%), respectively. The results suggest the clove oil can be used to control *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The extract and pure manipueira etanóico to 50% had a partial effect on teleóginas, however, not enough to control.

**Keywords:** cattle-tick, engorged female ticks, phytotherapeutic, vegetable extracts.

**LISTA DE FIGURAS**

Figura		Página
1.	Foto da mandioca Sergipe utilizada na fabricação da farinha.....	20
2.	Foto das raízes de mandioca utilizadas no processamento da farinha.....	20
3.	Foto do Nim do campo Agrostológico da Uesb.....	23
4.	Foto do craveiro-da-Índia.....	26

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Eficácia da manipueira ( <i>Manihot esculenta</i> ) em diferentes concentrações em teleóginas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973) .....	36
2. Eficácia do extrato aquoso e etanólico do Nim ( <i>Azadirachta indica</i> ) em diferentes concentrações sobre teleóginas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973).....	37
3. Efeito das concentrações do óleo essencial extraído de frutos de Craveiro-da-Índia sobre os diferentes parâmetros de avaliação de teleóginas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	38
4. Eficácia do óleo essencial de cravo ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) em diferentes concentrações em teleóginas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973) .....	39

**SUMÁRIO**

	Pag.
Resumo .....	vi
Abstract.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3. EFEITO “ <i>IN VITRO</i> ” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA ( <i>Manihot esculenta</i> ) (MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM ( <i>Azadirachta indica</i> ) E DO ÓLEO DE CRAVEIRO-DA-ÍNDIA ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) SOBRE <i>Rhipicephalus (Boophilus)</i> <i>microplus</i> .....	29
3.1 INTRODUÇÃO.....	29
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.3 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	36
3.4 CONCLUSÕES.....	41
3.5 REFERÊNCIAS.....	42
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50

## 1. INTRODUÇÃO

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o carrapato de maior incidência em bovinos no Brasil e um dos maiores entraves para a pecuária, principalmente para a leiteira, causando sérios prejuízos ao desempenho produtivo e econômico da bovinocultura, evidenciado pela queda da produtividade, deformidade do couro, intensificando-se ainda pela transmissão de doenças, dentre as quais a Tristeza Parasitária Bovina (TPB), causada pela *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*.

O método de controle mais utilizado é o químico, preconizado como o mais eficiente. Entretanto, um fator limitante tem sido o desenvolvimento da resistência dos carrapatos aos carrapaticidas, verificando-se uma redução gradativa na eficácia desses produtos, além dos custos elevados com a aquisição de carrapaticidas, mão-de-obra e equipamentos. Outro aspecto, não menos relevante, deve-se aos danos causados ao meio ambiente pela contaminação de solos e cursos d'água, além do acúmulo de resíduos em derivados cárneos e lácteos, podendo trazer transtornos a saúde pública.

O processo de globalização e as exigências do mercado consumidor, incentivados pela tendência mundial de buscar alternativas de produções sustentáveis que valorizem a questão ambiental e a saúde humana tem provocado constantes mudanças na economia brasileira, sobretudo nas exportações, obrigando as empresas a repensarem sobre as formas de uso de insumos agropecuários. Nesse contexto, a pecuária brasileira encontra-se inserida, sobretudo em atender as barreiras comerciais sanitárias de exportação e reduzir os custos de produção aliado a sustentabilidade ambiental. Já as empresas de fomento a inseticidas sintéticos deparam-se com o a sobrevivência do mercado diante de um cenário cada vez mais ameaçador com o risco da exaustão de todos os princípios ativos e da dificuldade dessas empresas de desenvolver novas bases químicas.

Tais fatores têm incentivado a busca de outras formas de controle que possam subsidiar a sanidade animal compatível com as suas necessidades, ao qual

o uso de fitoterápicos se enquadra como uma ferramenta promissora no combate aos parasitos em função da grande variabilidade de espécies de plantas existentes com diferentes princípios ativos.

Na tentativa de realizar um estudo que permitisse utilizar o mecanismo sustentável da tecnologia limpa, por meio de controle não-químico, através de raízes, folhas e óleos essenciais de plantas com potencial acaricida, o presente trabalho avaliou a eficiência de formulações com as raízes da mandioca (*Manihot esculenta*), das folhas de nim (*Azadirachta indica*) e do óleo essencial de craveiro-da-Índia (*S aromaticum*) no controle do carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos gerais do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) é um carrapato que infestam especialmente bovinos originários da Ásia, mais precisamente na Índia, Ilha de Java. Sua expansão se deu por meio das Grandes Navegações, com as transferências de animais e mercadorias (GONZALES, 1975; GOMES, 1998). Hoje pode ser encontrada na Ásia, Austrália, México, América Central, América do Sul e África, tendo se estabelecido de áreas tropicais e subtropicais, entre os paralelos 32° Norte e Sul e com alguns focos nos paralelos 35° Norte e Sul (KESSLER; SCHENK, 1998).

Segundo Bowman (2004), estima-se que 80% do rebanho bovino mundial esteja infectado por carrapatos, portanto, considerando o ectoparasita mais importante do ponto de vista econômico para a pecuária.

De acordo com Veríssimo (1993) este carrapato é um parasito hematófago, monóxeno, e seu ciclo evolutivo apresenta duas fases. A fase de vida livre ou não parasitária e a fase parasitária, quando infesta o hospedeiro, no período, em média, de 21 a 30 dias. A fase de vida livre inicia-se com a teleógina, que ao nutrir-se completamente do sangue animal, desprende-se do bovino em busca de um local que ofereça condições para realizar sua postura.

Do 22° ao 30° dia após a postura, dependendo da condição climática, inicia-se o processo de eclosão dos ovos e as neolarvas são originadas em dois a três dias, tornando-se larvas infectantes, a partir do endurecimento da cutícula. Em seguida, as larvas sobem em direção as pontas das folhas de plantas ou pastos agrupando-se e protegendo-se contra os raios solares. Ao infestar o animal, inicia-se o ciclo parasitário, onde se alimentam de linfa, substratos teciduais e sangue do hospedeiro. As larvas evoluem-se para ninfa e adultos, os quais acasalam-se, e as fêmeas completam o ingurgitamento, desprende-se dos hospedeiros e inicia a postura, e, daí então, um novo ciclo se inicia (GOMES, 2000; GONZÁLES, 2002).

Essas larvas infestantes tendem a se fixar nas áreas mais finas da pele como períneo, base interna da cauda, pernas, úbere, escroto, virilha e orelha do animal (CÓRDOVES, 1997; FARIAS, 1995).

Esses carrapatos apresentam uma grande eficiência reprodutiva, em média cada fêmea põe entre 1.500 e 3.000 ovos por postura, mesmo em condições adversas, contribuindo para as grandes infestações (ARENALES, 2002).

No Brasil, o rebanho bovino é composto de diferentes raças e seus cruzamentos, dentre as quais as de origem européia são mais susceptíveis ao carrapato. Tatchell (1987) enfatiza que a introdução de bovinos com sangue europeu ao rebanho brasileiro, principalmente os de aptidão de leiteira, potencializou o efeito prejudicial do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, com considerável aumento das populações, devido à menor resistência desses animais.

## 2.2 Aspectos econômicos e prejuízos provocados pelo carrapato

A atividade agropecuária representa cerca de 43% do PIB brasileiro, responsável por cerca de 67,84 bilhões do PIB em 2005, revelando sua importância no contexto econômico e social para o país (CNA, 2006). Em 2008, obteve um aumento de 3,8% de produção, possibilitando um acréscimo de 1,6% do PIB (IBGE, 2008). Nesse cenário, a bovinocultura apresenta-se com um grande destaque, conferindo ao Brasil o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com cerca de 168 milhões de cabeça, sendo 140 milhões destinados à produção de carne e 28 milhões a produção de leite (CNA, 2006).

Segundo Amaral et al. (2004), a pecuária leiteira brasileira destaca-se como uma das mais importantes do mundo, ocupando a sexta posição no *ranking* mundial em volume de leite produzido, com cerca de 21 bilhões de litros/ano, mesmo com um baixo nível tecnológico em relação à outros países.

Esse cenário parece bom, mas o Brasil poderia atingir um maior índice de produtividade, sendo considerado ineficiente quando comparado à alguns países industrializados, devido entre outros motivos, a desnutrição sazonal dos animais e a taxa de infestação por parasitos, dentre os quais se destaca o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (FERREIRA, 2004).

As perdas decorrentes do parasitismo, por ecto e endoparasitas provocam reduções na produção de carne e leite, pelos quais o país deixa de produzir 28 milhões de arrobas de carne/ano (aproximadamente R\$1,1 bilhões) e 4,3 bilhões de leite/ano (aproximadamente R\$1,3 bilhões) (CNA, 2006).

Grisi et al. (2002) estimaram um custo anual de dois bilhões de dólares gastos no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, levando-se em conta a diminuição da produção de carne e leite, aumento da mortalidade, redução da natalidade, perda da qualidade do couro, transmissão de patógenos e custos de produção. Essa perda econômica foi estimada em oito dólares por animal ao ano, dependendo do manejo sanitário e da forma de controle. Esses prejuízos também são relatados por Veríssimo (1993); Freitas (2005) e Ribeiro et al. (2007).

Braga (2002) destaca ainda que para as condições do Brasil, os prejuízos com esses parasitos representam em média de 20 a 30% do custo de produção. Somente os gastos anuais com produtos químicos são estimados em R\$800 milhões (CNA, 2006).

Cordovés (1997) afirma que os prejuízos causados pelos carrapatos podem ser diretos e indiretos. A ação irritante e tóxica da picada e a espoliação pelo hematofagismo podem ser definidas como prejuízos diretos. Já a possibilidade de transmissão de patógenos, os custos relacionados com o seu controle, envolvendo a aquisição de carrapaticidas, construção e manutenção de instalações e equipamentos, além da demanda de mão-de-obra adicional para a preparação e aplicação dos tratamentos, bem como o comprometimento da qualidade do couro, são definidos como prejuízos indiretos.

Cada fêmea de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ingere entre 0,5 e 3mL de sangue durante a sua vida parasitária (GONZALES, 1975). Furlong (1994) revelou que a TPB agrava ainda mais o quadro de perdas provocado pelo carrapato, podendo levar o animal a morte e que pode constituir um fator limitante para o melhoramento genético dos rebanhos. Madruga (1986); Sabatini et al.(2001) relacionaram a queda de produção ao fato de que os agentes da TPB proporcionam a destruição de hemácias do bovino, levando a um quadro de anemia, com um alto grau de morbidez.

As perdas na produção foram comprovadas no estudo de Sutherst (1983), onde foi realizada uma análise quantitativa da perda de peso e estimou-se que após ser picado por 1.400 carrapatos, um bovino perde em média 1 kg de peso vivo em

cada ciclo parasitário, variando de acordo com o estado nutricional, idade e manejo. Frisch et al. (2000) estimaram que a perda em 20kg ao ano, no animal com 12 a 18 meses parasitados com 40 carrapatos/dia. E a morte pode ocorrer com uma infestação de 200 carrapatos, durante um período de seis meses.

Jonsson et al. (1998) quantificaram perdas de 8,9 ml de leite/dia por teleóquina em um período experimental de 105 dias, estimando uma perda de 2.861 litros durante a vida produtiva dessa vaca.

Com relação ao comprometimento da qualidade do couro, Freitas (2005) verificou que alguns gêneros de carrapatos fixam-se em partes específicas do hospedeiro, onde a pele tem menor valor comercial, porém o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* localizam-se regiões consideradas nobres, observadas apenas no curtimento e isso reflete significativamente na qualidade do couro e, conseqüentemente por parasitos oportunistas como bernes, sendo que apenas 8% do couro produzido são comercializados como de primeira qualidade (CNA, 2006).

### 2.3. Métodos de controle: problemas e alternativas

O controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* consiste em um dos grandes desafios para a bovinocultura devido a sua alta proliferação e a difícil erradicação. Um controle eficiente do carrapato em uma propriedade depende de fatores relacionados às condições climáticas, o rebanho (tamanho, raças e cruzamento), as pastagens (variedades e lotação), os parasitos (número de gerações, eficácia dos parasiticidas) e o sistema de produção (ALMEIDA, 2005).

Atualmente, existem vários métodos disponíveis para controlar carrapatos, ao qual o mais comum é o uso de acaricidas sintéticos, ou seja, o método químico (RADOSTITS et al., 2002). Entretanto, o desenvolvimento da resistência dos carrapatos aos carrapaticidas tem verificado uma redução drástica na eficácia desses produtos.

Outro método contemporâneo é a utilização de vacinas. A primeira foi desenvolvida e comercializada na Austrália por Willaden et al. (1995) e age principalmente na redução da capacidade reprodutiva da fêmea. Segundo Azevedo (2006) a redução do número de parasitos é gradual, não apresentado nenhum efeito imediato para o seu controle, sendo necessárias outras formas integradas de

controle, em função de algumas limitações verificadas no processo de vacinação, uma vez que dependendo do tipo de vacina, é recomendada que a mesma seja aplicada a cada seis meses, elevando os custos e dificultando o manejo. Além disso, nem sempre a resposta é satisfatória, pois alguns indivíduos não respondem ao tratamento, favorecendo a próxima geração de carrapatos.

### 2.3.1 Resistência aos carrapaticidas e toxicidade

Segundo Bordin (1998) a resistência se deve provavelmente em função da capacidade de mutação do carrapato ao grau variável de desafios relacionados com a variabilidade epidemiológica entre os períodos favoráveis e adversos, habilidade bioquímica da espécie, inadequação de algumas práticas terapêuticas como dosagens errôneas e o uso indiscriminado de carrapaticidas sintéticos. Destaca ainda que a resistência possa ser instalada numa população antes mesmo de entrarem em contato com um determinado produto químico. O mais provável é que o uso freqüente de um carrapaticida seleciona esses indivíduos resistentes. Esse fato é denominado de estabelecimento do alelo resistente e a continuidade do uso desse produto gerará um aumento do número de carrapatos com essa característica pela pressão de seleção, uma vez que os indivíduos sensíveis morrem e os resistentes acasalam entre si produzindo apenas descendentes resistentes.

A resistência apresentada pelos carrapatos é genética e de caráter irreversível, logo as larvas de teleóginas resistentes herdaram os mesmos caracteres, e a suspensão do uso de um produto por um determinado período de tempo não habilitará a um novo uso eficaz (GONZÁLES, 1975). Furlong (2000) acrescenta que a predominância do alelo resistente ou o aparecimento da resistência acomete a propagação de genes responsáveis pela alteração comportamental, capaz de fazê-los sobreviver à base química utilizada no controle.

Até o final da década de 40, os carrapaticidas a base de arsênio eram os únicos utilizados no Brasil e, já nesse período, surgiram os primeiros casos de resistência. Os clorados substituíram em grande parte os arsênicos, mas em 1952, foram relatados casos de resistência (GONZALÉS, 1975). Sendo então substituídos pelos organofosforados e, no entanto, na década de 70 também foram relatadas

diversas estirpes com resistência a este grupo químico (OLIVEIRA; AZEVEDO, 2002).

Atualmente, os organofosforados ainda são utilizados, principalmente associados à piretróides, uma das últimas gerações de compostos disponíveis para o controle de carrapatos, com igual problema de resistência (FURLONG, 2000).

Na década de 80 foram lançadas as ivermectinas, que tem ação via sistêmica contra endo e ectoparasitos, mas não podem ser usados nos animais em lactação e em animais 30 dias antes do abate, devido ao nível de resíduos que se acumulam no leite e na carne. Nos últimos anos foram desenvolvidos a thiazolina, o fipronil e o fluazuron, embora esses dois últimos também tenham restrição para uso em animais em lactação (FURLONG, 2000). Contudo, várias bases carrapaticidas, disponíveis no mercado, têm apresentado resistência (VIVAN, 2005).

As principais vias de intoxicação por resíduos de acaricidas sintéticos ao ser humano são por meio da ingestão de alimentos contaminados e pela respiração e por absorção dérmica, no caso de trabalhadores que atuam com o manuseio dos produtos (GARCIA, 2001). Peres (1999) destaca que as intoxicações por resíduos de acaricidas, podem se dá de forma aguda, em uma exposição excessiva por um curto período, ou crônica, por uma exposição pequena ou moderada em longos períodos de tempo, mas que pode acarretar danos irreversíveis, envolvendo paralisias e neoplasias. Nesse contexto, Doll e Peto (1981) estimaram em seus estudos que 35% dos casos de câncer na população norte-americana têm origem na dieta, sendo os produtos químicos oriundos de pesticidas, acaricidas, entre outros, presentes nos alimentos os maiores responsáveis.

Uilenberg (1996) ressalta que o uso indiscriminado de acaricidas tem atuado, em certo grau, na degradação ambiental fixando-se em toda a cadeia alimentar por meio da contaminação de solos, atingindo os corpos d'água até os lençóis freáticos, além do acúmulo de resíduos destes no leite e na carne, que constituem um problema universal e de grande importância na saúde pública, interferindo na comercialização de produtos, principalmente para a exportação.

Diante de toda a problemática, diversos meios de controle têm sido estudados, dos quais destacam-se as pesquisas com fitoterápicos, envolvendo plantas que apresentam propriedades acaricidas, visando redução de custos e redução do uso abusivo de produtos químicos, assegurando uma melhor qualidade dos alimentos para a população envolvida (ROEL, 2001).

### 2.3.2 Emprego de fitoterápicos e seus benefícios

A fitoterapia tem sido uma importante fonte de extração de substâncias químicas de plantas (VIVAN, 2005). Quando comparado com os inseticidas sintéticos, os fitoterápicos apresentam inúmeras vantagens, pois são rapidamente degradáveis, a maioria das plantas tem acesso fácil, o desenvolvimento da resistência aos princípios ativos ocorre de forma mais lenta, não acumulam resíduos, além de constituir um menor custo de produção (CHUNGSAMARNYART et al., 1991; ROEL, 2001). Enquanto as desvantagens estão relacionadas com a influência das condições ambientais de cada local, diferentes partes da planta que onde se encontram a concentração das substâncias químicas, forma de extração e tipos de solventes utilizados, que podem influenciar a atuação do princípio ativo (CHAGAS et al., 2003).

As plantas com atividade inseticida podem causar diversas ações sobre os insetos, como repelência, inibição da postura e da alimentação, deformações, infertilidade e morte nas diferentes fases do seu ciclo de vida. O efeito e o tempo de ação dependem da maneira que as substâncias são extraídas (ROEL, 2001). Veigas Júnior (2003) relata que vários aspectos devem ser levados em consideração tais como a forma de extração e conservação dos compostos, ausência de toxicidade para os animais, fácil obtenção, manipulação e aplicação e viabilidade econômica.

#### 2.3.2.1 Manipueira

A utilização de extratos vegetais no controle dos parasitos tem sido o foco de muitos estudos em vários países (VIVAN, 2005). Dentre as diversas plantas com efeito inseticida/acaricida, encontra-se a mandioca *Manihot esculenta*, uma planta nativa da América Latina, cultivada em todo o Brasil, que ocupa o segundo lugar na produção mundial, estimada de 27 milhões de toneladas, onde a maior parte é destinada à agroindústria de produção de farinha e fécula (IBGE, 2006).

A manipueira é o resíduo líquido de aspecto leitoso, obtido das raízes da mandioca (Figura 1 e 2) fluente da sua moagem e prensagem, durante o processamento da fécula e da farinha. É, portanto, um subproduto da industrialização da mandioca, investigada no combate de pragas e parasitos

(PONTE, 1999). Fisicamente, se apresenta na forma de suspensão aquosa e quimicamente, é formada por uma miscelânea de compostos, no qual o enxofre, a linamarina e os derivados cianogênicos (ácido cianídrico, cianetos e aldeídos) conferem a ação inseticida, fungicida e acaricida do produto (MAGALHÃES, 1993).



Figura 1: mandioca Sergipe utilizada na fabricação de farinha



Figura 2: raízes da mandioca utilizadas no processamento da farinha.

A atividade da manipueira no controle de carrapatos foi demonstrada conforme experimento “*in vivo*” conduzido por Ponte (2002) envolvendo novilhas da raça holandesa severamente infestada por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, as quais receberam três aplicações da manipueira acrescentada de óleo de rícino na proporção 1:1. Os resultados obtidos provaram-se tão eficiente quanto ao produto químico creolfenol, ambos obtiveram uma eficiência máxima de 100% na mortalidade dos carrapatos. O autor enfatizou que o óleo de rícino teve um importante papel de veículo aderente e fixador do produto sobre os carrapatos no dorso do animal, bem como repelente a lambida das novilhas sobre o local, evitando eventuais reações tóxicas com o ácido cianídrico.

Ressalta-se que na literatura não foram reportados outras referências sobre o efeito acaricida “*in vitro*” e “*in vivo*” da manipueira sobre carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Entretanto, a eficiência da manipueira foi observada no controle de outros ácaros fitoparasitas, como descrito a seguir.

A capacidade acaricida da manipueira foi comprovada por Ponte (1996) no controle do ácaro branco (*Polyphagotarsonemus latus*) do mamoeiro (*Carica papaya* L.), obtendo uma eficiência de 100% de mortalidade dos parasitas com apenas três aplicações do resíduo em diluição aquosa na proporção 1:3, em intervalos semanais.

A eficácia da manipueira como inseticida foi testada por Ponte et al. (1988) no controle de três pragas da citricultura: a cochonilha de carapaça *Coccus hesperidum*, o pulgão negro *Toxoptera citricidus* e a cochonilha escama-farinha *Pinaspis aspidistrae*. A manipueira foi diluída em água na proporção 1:1 e pulverizada sobre a infestação, revelando-se uma eficiência de 100% de mortalidade dos parasitas. Similarmente, Ponte e Santos (1998) obtiveram a mesma eficiência utilizando a mesma diluição, mostrando-se tão eficaz quanto ao inseticida base parathion-metílico que fora usado nos ensaios como referencial de controle químico desses insetos. Esses resultados também foram demonstrados no experimento de Gonzaga (2007), utilizando uma concentração de 50mg/mL de manipueira em pó diluída em água, sobre o controle de pulgão preto de citros. Ponte e Miranda (1997) utilizou uma diluição aquosa (1:4), ainda menos concentrada, sobre uma cultura de tomate severamente atacada pela traça *Scrobipalpus absoluta* e obtiveram 100% de eficácia.

Em outro estudo, com extratos de erva-de-rato (*Palicourea marcgravii*) e da manipueira (*Manihot esculenta*), pulverizados sobre plantas de citros contendo pulgão verde dos citros (*Aphis spiraecola*), nas concentrações (10mg/mL, 20mg/mL, 30mg/mL, 40mg/mL e 50mg/mL). A mortalidade dos pulgões foi superior a 50%, sendo que a maior concentração do estudo causou a mortalidade de todos os insetos (GONZAGA, 2008).

A ação antifúngica da manipueira diluída em água 1:1 foi relatada por Magalhães (1993); Ponte (2001). Constatando 100% de eficiência no controle de fungos de “ferrugem” e “antracnose” em plantações de jardim e cajueiro.

A folha da mandioca foi investigada como nematicida, utilizando-se a parte aérea na alimentação de caprinos infectados por parasitas gastrintestinais (nematódeos), verificando-se uma redução na contagem de ovos fecais durante o tempo de alimentação, no entanto, não foi observado um aumento de peso dos animais infectados (SENG et al., 2007). Dung (2004) deduziu que esses resultados mostram uma evidência limitada do efeito anti-helmíntico da mandioca na dieta desses animais. Ambos os autores concordam que a alimentação ou suplementação por um período maior pode sugerir benefícios.

Com relação à conservação da manipueira, Ponte e Franco (1983) afirmaram que esta pode ser estocada a temperatura ambiente por um período de três dias, sem alterar, em geral, sua potencialidade pesticida. Porém, o período de estocagem pode ser ampliado por 60 dias ou mais se mantida em refrigeração (8 a 10°C), sem que haja fermentação do composto e, conseqüentemente, perda da qualidade.

Outras pesquisas envolvendo raízes de plantas leguminosas com potencial acarida foram realizadas por Costa Júnior et al. (2002), que utilizando retenóides extraídos de Timbó (*Derris urucu*), obtiveram eficiência de 100% de mortalidade de teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em diluição 10g/mL de água. Esses resultados também confirmam as observações de Pereira e Famadas (2004), que descreveram eficiência do Timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*), sobre teleóginas, de 99,32% em diluição 1/5mL e 99,60% para diluição 1/10mL.

### 2.3.2.2 Nim

*Azadirachta indica* (nim), árvore pertencente da família da Meliaceae (Figura 3), originária da Índia e Birmânia, introduzida no Brasil em 1984 e amplamente cultivada em todo o território brasileiro, tem demonstrado boa adaptação ao semi-árido nordestino, sendo pesquisadas nos últimos anos em programas de controle de insetos (BORGES, 2003).



Figura 3: Foto do nim do campo Agrostológico da UESB.

A azadirachtina é o principal componente ativo presente nas famílias da Meliaceae e a busca de seus análogos em plantas dessa família, ou por síntese química é um campo muito promissor (SIMÕES; SPITZER 1999).

A azadiractina é um tripterpeno, mais especificamente um limonóide. Sua ação acarreta distúrbios fisiológicos, alterando o desenvolvimento e a funcionalidade de várias espécies de artrópodes-praga, principalmente devido à ação de repelência alimentar, inibição de crescimento e da reprodução (SCHUMUTTERER, 1990; VIVAN, 2005).

De acordo com Mossini e Kemmelmeier (2005), a azadirachtina pode ser facilmente obtida por meio de processos de extração em água e solventes orgânicos como hidrocarbonetos, alcoóis, cetonas e éteres.

Ao relacionar a sensibilidade de carrapatos a solventes, Chagas et al., (2003) constaram que solventes de baixo peso molecular e de pouca viscosidade como o álcool etílico e metílico utilizados na solubilização de princípios ativos de extratos vegetais não interferiram na mortalidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* principalmente em concentrações inferiores a 76%, demonstrando a imparcialidade desses solventes sobre os resultados em ensaios experimentais.

No nim, a azadirachtina concentra-se principalmente nos frutos, atingindo a concentração máxima no seu amadurecimento (DAMARLA; GOPINATHAN, 2001) e quantidades mais baixas são encontradas nas demais partes da planta, havendo uma grande variação no teor da substância encontrada nas sementes de nim, determinada pelas condições climáticas e características de cada região de origem (ERMEL et al., 1987).

Saueressig (2002) verificou o efeito das folhas de nim, dos frutos maduros de sucupira (*Pterodons pubescens*), das folhas de sisal (*Agave sp.*) e ainda o nim comercial, utilizando o etanol, nas concentrações variando entre de 0,1 e 5%. Entretanto, não foi verificada nenhuma eficácia dos produtos, não inibindo a postura dos ovos e a eclosão das larvas. Souza et al. (2004) encontraram resultados semelhantes quando pesquisaram o efeito das folhas de nim, em testes “*in vitro*”, com a imersão de teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em extratos obtidos a partir de 100g de folhas frescas, 100ml de álcool e 50ml de água, diluídos a 1% e testados em duas repetições.

Valente et al. (2007) encontraram resultados satisfatórios no controle de *R. microplus*. As extrações foram obtidas utilizando 1kg de folhas frescas de nim misturadas em cinco litros de água a temperatura ambiente, deixada em descanso por 12 horas, sendo aplicados em banhos semanais, com dois litros da solução, em novilhas da raça holandesa infestadas, durante um período experimental de um mês. O efeito obtido foi idêntico ao da amabectina, utilizada como controle, ocorrendo uma redução de até 90% da infestação de carrapatos. Srivastava et al. (2008) avaliaram o efeito “*in vitro*” do extrato etanólico de sementes de nim a uma concentração de 8% sobre teleóginas e também observaram um efeito deletério, no entanto, seus resultados obtiveram uma eficácia máxima de 80%.

Ndumu et al. (1999) testaram a toxicidade da azadirachtina constituinte do óleo da semente de nim sobre larvas do carrapato *Amblyomma variegatum* e os resultados obtidos atingiram 100% de mortalidade de larvas após 36 horas. Os autores apontaram ainda uma grande vantagem do nim como fungicida e bactericida, auxiliando na cicatrização e desinfecção dos ferimentos produzidos pelo carrapato.

Borges et al. (2003) realizaram um estudo da eficácia “*in vitro*” da *Melia azedarach* (azadirachtina) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* verificando eficácia na mortalidade sobre as teleóginas. Foram utilizados frutos maduros que, após secos e triturados, foram submetidos à extração por percolação a frio utilizando diferentes solventes (hexano, clorofórmio e etanol), através da extração Soxhlet, a quente. As larvas e teleóginas foram imersas em concentrações decrescentes de 0,25% a 0,015% de cada um dos extratos. No caso das larvas, os índices mais altos de mortalidade foram observados nos extratos de clorofórmio (100%) e éter de petróleo (98%). Da mesma forma, os extratos com hexano e clorofórmio, mostraram mais alta eficácia contra fêmeas ingurgitadas (variando de 14 a 100%) do que com o extrato etanólico (variando de 0 a 46%). Sousa (2008) comparou o efeito entre extratos oleosos de frutos verdes e maduros da *Melia azedarach* sobre teleóginas e verificou-se que o fruto verde apresentou uma eficácia variando de 3,6 a 100% e o fruto maduro variou de 5,2 a 99,7%.

Para ácaros agrícolas, foram utilizados extratos de óleo de torta de sementes e folhas de nim a concentração 0,02, 15,9 e 121,4mg/mL e de 10,9, 520,9 e 277,4mg/ml que mataram 50 e 99% respectivamente, dos indivíduos do ácaro-vermelho-do-cafeeiro (*O. ilicis*). A taxa de crescimento populacional de *O. ilicis* diminuiu, linearmente, com o aumento da concentração dos extratos de óleo de torta, sementes e folhas de nim até 0,075, 15 e 144 mg/mL, respectivamente, a partir das quais as populações desse ácaro foram extintas (MOURÃO et al., 2004).

Da mesma forma, sementes moídas de cinamomo, árvore da mesma família do nim, provocaram 100% de mortalidade de larvas do mosquito *Aedes aegyptii* devido à inibição da síntese de quitina (FONTANA, 2003).

### 2.3.2.3 Cravo-da-Índia

O craveiro-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) (Figura 4) pertence à família Mirtaceae, destaca-se por ser de uma das maiores especiarias comercializados no mundo, o conhecido botão floral cravo-da-Índia (MAZZAFERA, 2003).



Figura 4: Craveiro-da-Índia

O óleo essencial de cravo-da-Índia tem como princípio ativo o eugenol, um composto fenólico volátil de amplo uso nas indústrias farmacêuticas, tendo ação analgésica e anti-séptica (FERRÃO, 1993; MAZZAFERA, 2003), inseticida (EL-HAG et al., 1999), bactericida (DORMAN; DEANS, 2000) e nematocida (TSAO; YU, 2000).

Os óleos essenciais também chamados de óleos voláteis ou etéreos, que correspondem a líquidos oleosos aromáticos que são obtidos de material vegetal como flores, brotos, sementes, folhas, ramos, madeira, frutas e raízes (BURT, 2004; BAKKALI et al., 2007).

Na literatura, a única referência relatada sobre o efeito carrapaticida do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) foi de Alvarez et al. (2008) que ao investigar diferentes plantas com potencial acaricida, comprovou sua ação “*in vitro*”, a partir de extratos hidroalcoólicos obtidos dos botões florais da planta, diluídos em água na proporção 1:1, que expressaram-se uma eficiência de 100% de mortalidade de teleóginas. Quando testado puro, não obteve resultado satisfatório, apresentando

apenas 1% de mortalidade. O autor justifica que a diluição do produto proporcionou a solubilização ação do principio ativo do extrato, permitindo a ação do eugenol.

Comparando o efeito repelente, de 38 óleos essenciais, contra mosquitos, Trongtokit et al. (2005) verificaram-se que apenas o óleo de cravo demonstrou um efeito repelente. A partir destes resultados iniciais, três concentrações (10, 50%, e não diluído) do cravo foram selecionadas para serem testados em repelências contra o mosquito *Aedes aegypti*, com 0,1mL de óleo de cravo de cada concentração aplicado a 30 cm do antebraço exposto de um voluntário, revelando uma repelência máxima de até quatro horas.

Outros estudos também têm comprovado a ação do eugenol, obtido de diferentes plantas: Chungsamarnyart; Jiwajinda (1992) utilizaram o óleo de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus*) nas formulações constituídas por 100; 75; 50 e 25% de óleo, diluído em etanol, demonstrando eficiência de 100; 70; 70 e 24% no controle de teleóginas, respectivamente. O bom desempenho do eugenol também foi detectado por Martins (2006) que verificou a inexistência de postura quando as teleóginas foram tratadas com esse óleo na concentração de 10% e tampouco houve eclosão dos ovos de teleóginas na concentração de 7,14%. Similarmente, Olivo et al. (2008) obtiveram uma atuação máxima de 92,1% de mortalidade de teleóginas ao analisar o efeito “*in vitro*” do óleo de citronela (*Cymbopogon nardus*) sobre os carrapatos de bovinos, extraído de folhas frescas, a uma concentração de 1%.

Efeito de extratos aquosos de sementes de nim, de botões florais de cravo-da-Índia e de cinamomo sobre a sobrevivência de ovos, larvas, ninfas e fêmeas adultas do ácaro verde da mandioca (*Mononychellus tanajoa*) foram pesquisados. Verificaram-se que os extratos de nim nas concentrações 0,5, 2,5 e 5% p/v causaram mortalidade de 16,8, 59,2 e 60% dos ovos, enquanto que o cravo-da-india a 5%, a mortalidade foi de 10,8%. O extrato de cravo-da-índia a 5% não causou mortalidade significativa de larvas e ninfas e as fêmeas tratadas com extratos de nim nas concentrações de 2,5 e 5% apresentaram mortalidade de 97,5 e 100%, enquanto que as fêmeas tratadas com extratos de cinamomo e cravo-da-índia nas mesmas concentrações tiveram mortalidade de apenas 5 e 7,5% e 5 e 12,5%, respectivamente (GONÇALVES et al., 2001).

Estudos envolvendo efeitos de óleos essenciais de outras plantas sobre carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* foram descritos na literatura. Prates

et al. (2002) estudaram a atividade carrapaticida do óleo essencial de capim-gordura, obtendo-se uma mortalidade de 100% de larvas de carrapatos num intervalo de tempo de 10 minutos a 24 horas, em função da presença de substâncias identificadas como o monoterpeneo, 1,8 cineol. Destacaram, ainda, que trata-se um produto natural produzido em várias plantas, principalmente em espécies de Eucalipto. Chagas (2002) realizou estudo sobre a ação biocida sobre o *Rhipicephalus microplus* a partir de três espécies de Eucalipto (*Eucalyptus citrodora*, *E. globulus* e *E. staigeriana*) e obteve 100% de eficiência, nas concentrações 17,5%, 15% e 12,5%, respectivamente.

Utilizando o óleo de copaíba (*Copaifera reticula*), Fernandes e Freitas (2007) investigaram o seu potencial no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, revelando uma eficiência de 100% na concentração de 0,35% de óleo sobre larvas infestantes. As propriedades biológicas da Copaíba foram atribuídas aos fitoconstituintes conhecidos como ácidos terpenicos, sesquiterpenos e diterpenos, ao qual a maioria destas substâncias encontra-se apenas na copaíba (CASCON; GILBERT, 2000).

### **3. EFEITO “IN VITRO” DO RESÍDUO LÍQUIDO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta*) (MANIPUEIRA), DO EXTRATO DO NIM (*Azadirachta indica*) E DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVEIRO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

#### **3.1 INTRODUÇÃO**

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é a principal espécie de carrapato de bovinos no Brasil responsável por sérios prejuízos, evidenciados pelo comprometimento do desempenho produtivo do animal, lesões que afetam a qualidade do couro e predispõem a infecções ou infestações secundárias, agravando-se ainda pela transmissão de agentes patogênicos, como *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *B. bigemina* causadores da Tristeza Parasitária Bovina (VERISSÍMO, 1993; RIBEIRO et al., 2007).

Dentre os diversos métodos para o controle desses ectoparasitas, destaca-se o uso de produtos químicos. No entanto, o emprego indiscriminado destes tem impulsionado o desenvolvimento da resistência, pela seleção dos indivíduos naturalmente resistentes a determinado produto (CALDAS; SOUZA, 2000). Outro problema relevante é acúmulo de resíduos no leite e no meio ambiente, que podem causar transtornos a saúde pública (DUNKAL, 1998; CHAGAS et al., 2003).

Plantas com atividade inseticida têm sido utilizadas pelo homem desde os tempos mais remotos (ROEL, 2001). Atualmente, a utilização de extratos vegetais no controle de carrapatos tem sido retomada, sendo o foco de pesquisas em vários países. No Brasil, diversos estudos com plantas, têm sido conduzidos com diferentes compostos extraídas de folhas, sementes e raízes, identificadas como possíveis carrapaticidas ou alternativas que envolvem o uso de métodos sustentáveis eco-eficientes, integrado ao manejo estratégico ou aliado a outras medidas de controle que possam atenuar o problema da resistência (PONTE, 2002; COSTA JUNIOR et al. 2002; BORGES et al. 2003, PEREIRA; FAMADAS 2004, MARTINS, 2006; VALENTE et al., 2007; ALVAREZ et al., 2007; OLIVO et al. 2008).

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito “*in vitro*”, do óleo essencial de craveiro-da-Índia (*Syzygium aromaticum*), da manipueira (*Manihot esculenta*) e do extrato aquoso e etanólico do nim (*Azadirachta indica*) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção das teleóginas

Para a realização do teste, foram selecionadas teleóginas de diferentes rebanhos de aptidão leiteiras de origem mestiça ou européia, de fazendas da microrregião de Itapetinga - BA, que se encontravam a pelo menos 45 dias sem tratamento parasiticida, ao qual cada amostra foi submetida a todos os tratamentos. a produção animal na Região Pastoril de Itapetinga caracteriza-se como uma pecuária extrativista em sistemas de pastejo contínuos, com taxas de lotação bastante elevadas e predominância das gramíneas capim colônia e da brachiária. (GOMES e DETONI, 1998). Essa região apresenta um clima semi-árido, com regime pluviométrico de 800 mm/anuais (IBGE, 2007).

### Manipueira

A manipueira foi coletada em agroindústrias localizadas no município de Vitória da Conquista - BA, que utilizam a mandioca para a fabricação de farinha e fécula. A manipueira foi armazenada em frasco âmbar e conservada no gelo durante o transporte ao laboratório, ao qual o pH foi determinado, medido diretamente com o auxílio de um pHmetro, sendo utilizada em até 24 horas após a coleta, em virtude da volatilidade do ácido cianídrico.

Foram testadas quatro diluições, 25%; 50%; 75% de manipueira, em água destilada, e não diluída, além do grupo controle tratado com água destilada.

### Extrato aquoso e etanólico do Nim

Folhas da *A. indica* foram coletadas no Campo Agrostológico da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Itapetinga, no mês de julho de 2008, de uma árvore adulta e processadas no Laboratório de Pastagem e Forragicultura da mesma.

As folhas foram lavadas e selecionadas, eliminando galhos e folhas secas. Pesou-se cerca de 2.400g de matéria verde total para cada solução, e, em seguida, foi colocada em estufa de secagem com fluxo de ar contínuo a temperatura a 40<sup>o</sup> C para desidratação por quatro horas, sendo homogeneizada com duas horas para uma secagem por igual das folhas. As folhas desidratadas foram novamente pesadas e trituradas em moinho de facas com peneira de 5mm, para melhor extração.

Foram utilizados como extratores a água destilada e o etanol absoluto P.A, gerando dois diferentes extratos e concentrações para cada solução de 300 mL: extrato aquoso a 10% e 50% e extrato etanólico a 10% e 50% das folhas de nim, além das soluções controles contendo apenas água e álcool.

Em seguida, foram acondicionados em um balão volumétrico de 2000 mL, envolvido com papel alumínio e armazenado em local fresco e escuro para evitar irradiação solar. Para que houvesse uma extração máxima do princípio ativo, a solução aquosa foi mantida em repouso durante 24 horas e a solução etanólica por cinco dias.

Após esse período, a solução foi filtrada, em um sistema montado com bomba de vácuo.

Para determinação do rendimento dos extratos de nim nas soluções, baseou-se o método de peso. Pesou-se três beakers de 50mL. Em seguida, Colocou-se 1mL do filtrado em cada um dos beakers, onde este material foi levado à estufa sob temperatura de aproximadamente 100°C, para secagem completa. Com o auxílio da pinça retirou-se os beakers da estufa e esperou esfriarem, realizando novamente a pesagem dos mesmos.

Após este procedimento, calculou-se a diferença entre os valores obtidos, obtendo-se assim a concentração do filtrado em mg/mL. Para reduzir a margem de erro na pesagem, realizou-se a média aritmética da diferença de peso dos beakers.

## Óleo essencial de cravo

A extração do óleo essencial de craveiro-da-Índia foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e Síntese Orgânica da Universidade Estadual de Santa Cruz. Os talos e frutos foram coletados no município de Ilhéus – BA. O material vegetal seco foi submetido ao processo de extração de óleos essenciais pela técnica de hidroestilação por meio de um adaptador “Clevenger” por um período de quatro horas. As extrações foram realizadas em triplicatas, utilizando uma massa de aproximadamente 40g de material. O óleo essencial foi separado do hidrolato através de extração por participação líquido-líquido com éter etílico. A fase orgânica foi separada, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada. O teor de óleo essencial foi determinado em percentagem, volume e massa. O índice de refração foi determinado em refratômetro do tipo ABBE. Após a extração, o óleo essencial foi acondicionado em frasco de vidro envolvido com papel alumínio e conservado a uma temperatura de  $-2^{\circ}\text{C}$ . Utilizou-se no estudo as diluições de 2,5 e 5%.

Para formulação da solução carrapaticida com o óleo essencial de cravo seguiu-se, como referência, a mesma diluição para o preparo do carrapaticida Fipronil, utilizado nos testes biocarrapaticidograma pela Embrapa Gado de Leite, com 40% de acetona e 60% de água destilada, e para o grupo controle utilizou-se apenas a acetona diluída em água destilada, na mesma concentração acima.

## Teste de imersão

Para a avaliação da eficácia da manipueira, do extrato do nim e do óleo essencial de craveiro-da-Índia sobre as teleóginas foram realizados testes de imersão preconizados por Drummond et al. (1973).

No laboratório as teleóginas foram higienizadas com água destilada e secas com papel filtro esterilizado. Apenas as teleóginas colhidas nas últimas 48 horas, que se mostravam sem alterações morfológicas ou restos de tegumento no aparelho bucal foram selecionadas para os testes de sensibilidade, sendo separadas e pesadas, divididas em quatro grupos experimentais homogêneos com 10 teleóginas para cada tratamento, da seguinte maneira; grupo I, II e III representando os

tratamentos e o grupo IV, representando o controle. Ambos os tratamentos foram submetidos a cinco repetições.

De cada uma das soluções preparadas, reservou-se 30 mL em um copo descartável, onde os grupos de teleóginas de cada tratamento foram inteiramente submersas por cinco minutos. Após esse procedimento, estas teleóginas foram secas com papel absorvente, e acondicionadas em placa de Petri de 100 mm, previamente identificadas, que foram incubadas em estufa tipo B.O.D, mantidas à temperatura de  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $85\% \pm 5\%$ .

No 15º dia, as massas de posturas dos ovos foram pesadas, acondicionadas em seringas vedadas com algodão hidrófilo e recolocadas na estufa, com a mesma temperatura e umidade. Vinte e cinco dias após a pesagem realizou-se a leitura da eclodibilidade das larvas por comparação visual, comparando o grupo controle com os demais grupos, ou seja, avaliando os ovos não eclodidos remanescentes e as cascas de ovos que eclodiram, respeitando o intervalo de 5%.

#### Biocarrapaticidograma

Para a avaliação da eficácia das plantas sobre as fêmeas ingurgitadas foram analisados os seguintes parâmetros: índice reprodutivo (IR) e a eficácia do produto (EP) foram obtidos pelas fórmulas (Drummond et al., 1973):

$$\text{IR} = \frac{\text{peso da massa de ovos (g)} \times \% \text{ eclosão} \times 20.000}{\text{peso da teleóginas (g)}}$$

A constante 20.000 significa o número estimado de ovos em 1g de ovos de *Riphicephalus (Boophilus) microplus*.

$$\text{EP} = \frac{\text{IR do grupo controle} - \text{IR do grupo tratado} \times 100}{\text{IR do grupo controle}}$$

## A análise estatística

Para análise dos resultados utilizou-se o programa GraphPad InStat 3.06 Demo, pelo teste de Kruskal-Wallis, para a comparação de médias das eficiências dos produtos testados, com uma significância de 5% ( $P > 0,05$ ).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A manipueira revelou-se um pH ácido de 4,55, o que demonstra a intensa atividade enzimática, pela presença de cianeto potencial (CEREDA, 2002).

Os resultados dos testes realizados para a avaliação da manipueira revelaram que o melhor resultado foi obtido quando utilizada pura, porém a eficiência média obtida foi de 82,53% (Tabela 1). Esse resultado difere do mencionado por Ponte (2002), que em experimento “*in vivo*” obteve 100% de eficiência utilizando a manipueira misturada ao óleo de rícino, na proporção 1:1. Pode-se supor que o óleo de rícino atuou como fixador do princípio ativo sobre os carrapatos, o que influenciou significativamente nos resultados. Provavelmente a volatilidade do ácido cianídrico foi determinante para tais resultados.

Tabela 1. Eficácia da manipueira (*Manihot esculenta*) em diferentes concentrações em teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973).

Produto	Diluição	Eficácia (%)			
		Mínima	Máxima	Média (%)	Desv. Pad.(%)
Manipueira	Não diluída	70,9	89,21	82,53 <sup>a</sup>	7,10
	75%	44,3	78,77	57,45 <sup>ab</sup>	13,60
	50%	15,12	76,49	34,93 <sup>ab</sup>	24,22
	25%	14,11	32,01	24,05 <sup>b</sup>	7,62

Médias seguidas pela mesma letra não si diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

Embora a literatura referente ao efeito sobre carrapatos seja escassa, a manipueira apresentou atividade sobre ácaros e insetos de importância agrícola, (PONTE et al., 1988; PONTE, 1996; PONTE; SANTOS, 1998; GONZAGA et al., 2007; GONZAGA et al., 2008), bem como ação antifúngica (MAGALHÃES, 1993; PONTE, 2001) e nematicida (SENG, 2007).

Na avaliação sobre o nim, o extrato etanólico a 50% mostrou-se mais eficaz com relação aos demais, proporcionando uma mortalidade de 74,39% sobre fêmeas ingurgitadas (Tabela 2).

Tabela 2. Eficácia do extrato aquoso e etanólico do Nim (*Azadirachta indica*) em diferentes concentrações sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973).

Produto	Concentração	Eficácia		Média (%)	Desv. Pad(%)
		Mínima	Máxima		
Nim etanólico	50%	64,56	90,15	74,39 <sup>a</sup>	13,28
	10%	36,79	68,74	52,94 <sup>ab</sup>	14,94
Nim aquoso	50%	6,51	37,09	20,05 <sup>b</sup>	14,80
	10%	1,69	24,92	15,04 <sup>b</sup>	8,49

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

Os dados apresentados mostram que os resultados obtidos neste trabalho não foram suficientes para o controle do carrapato, assim como os resultados obtidos por Saueressig (2002), Souza (2004) e Srivastava et al. (2008), que obtiveram uma eficácia máxima de 80% de mortalidade de teleóginas.

Os resultados obtidos neste experimento, no entanto, foram inferiores aos registrados por Valente et al. (2007), que em experimentação “*in vivo*”, conseguiram uma redução de até 90% da infestação de carrapatos nos animais, utilizando extrato aquoso de folhas de nim.

A diferença entre esses resultados pode estar relacionada ao fato da azadirachtina concentrar-se nos frutos, principalmente em amadurecimento, e em menor concentração distribuída nas demais partes da planta (DAMARLA; GOPINATHAN, 2001), bem como as condições climáticas e as características da região de origem da planta que podem influenciar na quantidade da substância presentes nas plantas (ERMEL et al., 1987).

Estes resultados também diferiram dos relatados por Ndumu et al. (1999) que utilizaram óleo extraído das sementes de nim, cuja eficiência encontrada foi de 100% de mortalidade de larvas de *Amblyomma*, após 36 horas de experimentação. Provavelmente este fato ocorreu em função do óleo essencial da planta possibilitar

uma melhor atividade do princípio ativo, em função de obter-se uma maior concentração da substância.

Com relação aos solventes utilizados na extração da azadirachtina, verificou-se que a participação do etanol foi mais efetiva. Já a água não se revelou um solvente ativo, provavelmente por causar algum antagonismo entre os componentes. Não houve nenhuma influência do álcool etílico na mortalidade das teleóginas como constatado no trabalho de Chagas et al. (2003).

O efeito do óleo de cravo sobre fêmeas ingurgitadas, sobre diferentes parâmetros, está descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Efeito das concentrações do óleo essencial extraído de frutos de Craveiro-da-Índia sobre os diferentes parâmetros de avaliação de teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

<b>Produto</b>	<b>Concentração</b>	<b>Mortalidade de teleóginas após 24 horas (%)</b>	<b>Postura das teleóginas (%)</b>
Óleo de Cravo	2,5%	94%	6%
	5%	98%	2%
Controle	0%	0%	100%

Médias seguidas pela mesma letra não si diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

Observou-se que os solventes utilizados, água destilada e acetona, não influenciaram nos resultados, conforme se deduz na inclusão do tratamento-controle que não ocasionou mortalidade dos carrapatos (Tabela 3).

O rendimento do óleo extraído de frutos de Craveiro-da-Índia foi de 15,45% em massa e 15,07% em volume. Segundo Tainter et al., (1993) plantas com rendimentos acima de 15% de óleo essencial tem uma boa qualidade.

Constatou-se que a eficácia média em ambas as concentrações, estão de acordo com a recomendação preconizada para uma eficácia mínima de um carrapaticida que é de 95% (CÓRDOVES, 1997), (Tabela 4).

Tabela 4. Eficácia (%) do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) em diferentes concentrações em teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica biocarrapaticidograma (Drummond, et al. 1973).

Produto	Concentração	Eficácia (%)			
		Mínima	Máxima	Média (%)	Desv. Pad
Óleo de Cravo	5%	97,08	100	99,42 <sup>a</sup>	1,30
	2,5%	92,19	100	97,15 <sup>a</sup>	3,34

Médias seguidas pela mesma letra não si diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

A ação *in vitro* do óleo de cravo, sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, no presente estudo, foi similar aos resultados reportados por Alvarez et al. (2008). Ainda que tenham utilizado extratos hidroalcoólios de botões florais de cravo, ambos expressaram uma eficiência máxima de 100% de eficiência na mortalidade, com 99% de eficiência média do produto. Isso demonstra ação potencial do cravo sobre este parasito, o que pode ser explicado pela presença do eugenol (FERRÃO, 1993; MAZZAFERA, 2003), reconhecido pela sua ação inseticida (EL-HAG et al., 1999), bactericida (DORMAN; DEANS, 2000) e nematicida (TSAO; YU, 2000), bem como o efeito repelente sobre o mosquito *Aedes aegypti* (TRONGTOKIT et al., 2005).

Quando comparado ao óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*), que também apresenta em sua composição o eugenol, o óleo de cravo obtiveram resultados aproximados aos encontrado por Martins (2006), ao qual obteve 100% de eficiência máxima de eficiência no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, utilizando o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*), a 10%. Essa diferença pode está relacionada com a presença de vários compostos encontrados na citronela, como o citroneral, citronelol e geraniol. No entanto, diferiram do encontrado por Olivo et al. (2008), que obtiveram 92,1% de eficiência, utilizando o óleo essencial de citronela a 1%, ao qual pode ser explicada pela variação das concentrações obtidas entre os óleos extraídos.

Quando se comparou os resultados da manipueira, do nim com o cravo, observou-se que este último apresentou um melhor desempenho carrapaticida, com resultados superiores ( $p > 0,05$ ), para os índices de eficiência do produto, como foi descritos nas tabelas 1, 2 e 4.

A indústria farmacêutica internacional continuamente há investigado novos compostos para o controle químico de carrapatos. O custo do desenvolvimento de novos produtos está entre 100 e 230 milhões de dólares e o processo pode tardar mais 10 anos no mercado (De Alva, 1995). No entanto, os testes de comparação até agora exemplificados, não foram delineados para testar produtos voláteis.

O presente estudo demonstra que o óleo essencial de cravo apresentou propriedade carrapaticida "*in vitro*" de acordo com os indicadores de mortalidade de teleóginas e eficiência reprodutiva no estágio adulto do carrapato. Portanto, este pode representar o passo inicial na busca de novos produtos, ao quais os resultados nesta investigação foram bastante animadores e rigorosos, uma vez que cada procedimento experimental foi realizado com seis repetições por concentração, além de seus controles.

### 3.4 CONCLUSÕES

O óleo de cravo tem ação contra teleóginas de *Ricpicephalus (Boophilus) microplus*.

A manipueira pura e o extrato etanólico do nim demonstraram um efeito parcial sobre as teleóginas, porém, não foram suficientes para o controle eficiente do *Ricpicephalus (Boophilus) microplus*.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. A. O. **Controle de carrapatos: resistência e vacinas**, 2005. Disponível em: [www.simentalsimbrasil.com.br](http://www.simentalsimbrasil.com.br). Acesso em: 12 jul. 2007.
- ALVAREZ, V.; LOAIZA, J.; BONILLA, R.; BARRIOS, M. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. **Revista Biologia Tropical**, v. 56, n.1, p. 291-302, 2008.
- AMARAL, R. RUAS, J. R. M.; SANTIAGO, R. L.; ANDRADE, G. D. Sistema de produção de leite utilizando vacas mestiças e produção de fêmeas F1. **Produção de leite com vacas mestiças**, v.25, n.221, 2004. 57p.
- ARENALES, M. do C. **Informativo técnico da homeopatia veterinária com a medicina convencional no controle de ecto e endoparasitas**. São Paulo: Perdizes, 2002. 37p.
- AZEVEDO, A. L. S. **Varredura genômica para QTL associado a resistência a *Boophilus microplus* de bovinos**. Dissertação (Mestrado): Universidade Federal de Viçosa, 2006. 65p.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECKA, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446–475, 2008.
- BOWMAN, A. S.; NUTTAL, P. A. Ticks: biology, disease and control. **Parasitology**, v.1, 2004. 129p.
- BORDIN, E. L. Carrapatos – Uma abordagem diferenciada. **A hora da veterinária**. Ano 18, n.103, p.23-28, 1998.
- BORGES, L. M. F.; FERRI, P. H., SILVA, W. J., SILVA, W. C., SILVA, J. G. *in vitro* efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. **The Royal Entomological Society Medical and Veterinary Entomology**. v.17, p.228-231, 2003.
- BRAGA, R. M. **Considerações para o controle do carrapato, mosca dos chifres e vermes gastrintestinais em bovinos de Roraima**. EMBRAPA, 2002. 41p.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-253, 2004.
- CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico de ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 529-537, 2000.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuna* Hayne. **Phytochemistry**, v.55, p.773-778, 2000.
- CEREDA, M. P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. In: CEREDA, M. P. (Coord.) Manejo, uso e tratamento de subprodutos da

industrialização da mandioca. **Série Cultura de Tuberosas Latino Americanas**, São Paulo: Fundação Cargill, v.4. cap.1, p.13-37, 2002.

CHAGAS, A. C. S., PASSOS, W. M., PRATES, H. T., LEITE, R. C., FURLONG, J., FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus spp* em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

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

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S.; RATANAKREETAKUL, C. Practical extraction of sugar apple seeds against tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal**, v. 25, p. 101-105, 1991.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal**, v.26, p.46-51, 1992.

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

COSTA JÚNIOR, L. M., CHAGAS, A. C. S., FURLONG, J., REIS, E. S., MASCARO, U. C. P. Eficiência “*in vitro*” de Rotenóides extraídos do Timbó (*Derris urucu*) em teleóginas do carrapato *Boophilus microplus*. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro. Anais 2002: CBPV, 2002. 1CD - ROM.

**CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL**: (CNA) 2006. Renda dos pecuaristas cairá 4,8%. Disponível em: [www.cna.org.br](http://www.cna.org.br). Acesso em: Jan./2008.

DAMARLA, S. R.; GOPINATHAN, M. C. Accumulation and changes of azadirachtin during the development of fruit of the neem tree, *Azadirachta indica*, and during its seed germination. In: KELANY, I. M.; REINHARD, W. **Proceedings of the Workshop on Practice oriented Results on use of Plant Extracts and Pheromones**. Cairo, Egypt, p.23, 2001.

DE ALVA, R. Creating new products for animal health. In: **SEMINARIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL**. 3., 1995, Acapulco. Proceedings, 1995. p.86-7.

DOLL, R. PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. **Journal National Cancer Institute**, v.66, p.1191-308, 1981.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial active of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.308-316, 2000.

DRUMMOND, R. O., ERNST, S. E., TREVINO, J. L., GLADNEY, W. J., GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. **Journal Economical Entomology**, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

DUNG, N.T., NGYEN, T.M; INGER, L. Effect of replacing a commercial concentrate with cassava hay (*Manihot esculenta* Crantz) on the performance of growing goats. **Animal Feed Science and Technology**, v.119, p. 271-281, 2005.

DUNKEL, F. V.; SEARS, L. J. Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. Spp. Vaseyana (Rydb) beetle for stored grain insects. **Journal os Stored Produ ets Research**, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.

ERMEL, K., PAHLICH, E.; SHUMUTTERER, H. Azadirachtin content of neem kernels from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity, and light. In: SCHUMETTERER, H.; ASCHER, K. R. S. **Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants**. Proceedings of the III International Neem Conference. Nairobi, Kenya, GTZ, Eschborn, p.171-184, 1987.

EL-HAG, E.A.; EL-NADI, A.H.; ZAITOON, A. A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Celex pipiens* larvae (Díptera: Culicidae). **Phytotherapy Research**, v.13, p. 388-392,1999.

FERRÃO, J. E. M. **Especiarias – Culturas, Tecnologia, Comércio**. Instituto de Investigação Tropical: Lisboa,1993. 431p.

FERREIRA, J. J. Alimentação de bovinos mestiços leiteiros. Produção de Leite com vacas mestiças. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.25, n.221, p.64-65, 2004.

FERNANDES, F. de F. FREITAS, E. de P. S. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulada* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.147, p. 150-154, 2007.

FONTANA, J. D. **Extrato alcoólico de frutos de cinamomo mata larva do mosquito da dengue**, 2003. Disponível em: [www.ambientebrasil.com.br](http://www.ambientebrasil.com.br). Acesso em: 10 mai. 2008.

FREITAS, D. R. J. de.; POHL, P. C.; VAZ JUNIOR, I. da S. Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato *Boophilus microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, n.2, p.109-117, 2004.

FRISCH, J. E.; NEILL, C. J.; KELLY, M. J. Using genetics to control cattle parasites - the Rockhampton experience. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.253-264, 2000.

FURLONG, J. **Manejo Sanitário, Prevenção e Controle de Parasitoses e Mamite em Rebanhos de Leite**. Coronel Pacheco MG: CNPGC - EMBRAPA, p. 37-48, 1994.

FURLONG, J. MARTINS, J. R. S. **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas**. Boletim Técnico 59. Juiz de Fora: EMBRAPA - CNPGL, 2000. 25p.

FURLONG, J. Teste do biocarrapaticidograma (imersão de teleóginas). **V Curso Internacional Progressos no Diagnóstico das Parasitoses dos Animais de Produção**. Salvador: Escola de Medicina Veterinária, UFBA, 2004.

GARCIA, E. G. **Segurança e saúde no trabalho rural: a questão dos agrotóxicos**. São Paulo: Fundacentro, 2001. 182p.

GOMES, H. de S.; DETONI, C. E. Avaliação de solos e vegetação na Região Pastoril de Itapetinga – BA. **Revista Bahia Agrícola**, v.2, n.3, 1998.

GOMES, A. **Controle do Carrapato do Boi: Um problema para quem cria raças européias**. Campo Grande - MS: EMBRAPA Gado de Corte. Ago. nº 31, 1998.

GOMES, A. **Carrapato-do-Boi**. EMBRAPA. Campo Grande MS, 2000. Disponível em: [www.cnpqg.embrapa.br/publicações/divulga/GCD42.html](http://www.cnpqg.embrapa.br/publicações/divulga/GCD42.html). Acesso em: 02/04/07.

GONÇALVES, M. E. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Effect of Plant Extracts on Immature Stages and Adults Females of *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomologia**. vol.30, n.2, 2001.

GONZÁLES, J. C. **O controle dos carrapatos dos bovinos**. Porto Alegre: Sulina, 1975. 103p.

GONZÁLES, J. C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus*: revisão histórica e conceitual. **A hora Veterinária**, v.21, n.152, p.23-28, 2002.

GHOSH, S.; AZAHAIANAMBI, P.; YADAV, M. P. Upcoming and Future strategies for tick control: A review. **Journal Vector Borne Dis**, v.6, p.305-314, 2007.

GONZAGA, A. D. GONZAGA, A. D.; GARCIA, M. V. B.; SOUSA, S. G. A. de V. P.; CORREA, R. da S.; RIBEIRO, J. D. Potencial de manipueira (*Manihot esculenta* Crantz) no controle do pulgão preto de citros (*Toxoptera citricida* Kirkaldy, 1907). **Revista Brasileira de Agroecologia**, n.2, n.2, out. 2007.

GONZAGA, A. D. GONZAGA, A. D.; GARCIA, M. V. B.; SOUSA, S. G. A. de V. P.; CORREA, R. da S.; RIBEIRO, J. D. Toxicity of cassava manipueira (*Manihot esculenta* Crantz) and erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) to adults of *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazônica**, v. 38, n. 1, p.101-106, 2008.

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

KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: EMBRAPA - CNPGL, p.9-33/74-61, 157p, 1998.

**INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA: IBGE (2006).** Agropecuária Brasileira. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: 15 mar.2007.

**INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA: IBGE (2008).** Ministério do Planejamento e Gestão. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: 18 jan. 2009.

JONSSON, N. N.; DAVIS, R.; WITT, M. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. **Veterinary Parasitology**, v.78, p.65-77, 1998.

MADRUGA, C. R.; BERNE, M. E. A.; KESSLER, R. H. **Diagnóstico da tristeza parasitária bovina no estado do Mato Grosso do Sul: inquérito de opinião.** Ministério Agricultura EMBRAPA - CNPQC, 1986. 32p. Circular Técnica, n.18.

MAGALHÃES, C. P. **Estudos sobre as bases bioquímicas da toxicidade da manipueira a insetos, nematóides e fungos.** Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências: Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1993. 117p.

MARTINS, R. M. Estudo in vitro da ação acaricida do óleo essencial da gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.71-78, 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do cravo-da-índia e do eugenol. **Revista Brasileira Botânica**, v.26, n.2, p.231-238, 2003.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.24, n.1, p.139-148, 2005.

MOURÃO, A. S.; ZANÚNCIO, J. C. Toxicidade de extratos de nim ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis*, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.827-830, 2004.

NDUMU, P. A.; GEORGE, J.B.D.; CHOUDHURY, M.K. Toxicity of Neem Seed Oil (*Azadirachta indica*) against the Larvae of *Amblyomma variegatum* a Three-host tick in Cattle. **Phytotherapy Research** v.13, p.532-534, 1999.

OLIVEIRA, A. A.; AZEVEDO, H. C. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Revista Científica Rural**, v.7, nº 2, p64-71, 2002.

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

OSTERROHT, M VON; WITZLER, L.; PIMENTA, S. E BRUM, C. "Passos para conversão à pecuária orgânica" e "Pecuária orgânica no Grupo Independência". In **Agroecologia Hoje**, ano II, n.13, p.15-20, 2002.

PERES, F. **É veneno ou é remédio? Os desafios da comunicação rural sobre agrotóxicos.** Dissertação de mestrado. Rio de Janeiro: ENSP/Fiocruz, p. 68-72, 1999.

PEREIRA, J. R., FAMADAS, K. M. Avaliação “in vitro” da eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoidae, Millettidae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região do Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. **Arquivo Insect Biology**. v.71, p.443–450, 2004.

PONTE, J. J. da.; FRANCO, A. influência da idade da manipueira na preservação do potencial nematicida do composto. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, v.7, p.237-240, 1983.

PONTE, J. J. da.; FRANCO, A.; SANTOS, J. H. R. Teste preliminar sobre a utilização da manipueira como inseticida. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.7, n.1, p.89-90, 1988.

PONTE, J. J. Eficiência da manipueira no controle do ácaro branco do mamoeiro. **Revista de Agricultura**, v.71, n.2, p.259-261, 1996.

PONTE, J. J. da. MIRANDA, E. Eficiência da manipueira no controle da traça. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1997. 3p. (**Boletim técnico**).

PONTE, J. J. da ; SANTOS, J. H. R. Eficiência da manipueira no controle de *Toxoptera citricidus* – o pulgão negro dos citros. **Fitossanidad**, La Habana, 1998.

PONTE, J. J. da. **Cartilha da manipueira, uso do composto como insumo agrícola.** Fortaleza: SECITECE, 1999. 64p.

PONTE, J. J. da. Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante. In: **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização Da Mandioca.** São Paulo: Fundação Cargill, v.4, p. 80-95, 2001.

PONTE, J. J. da. Eficiência da manipueira como carrapaticida. **Revista Agrícola**, v. 77, p.123–127, 2002.

RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos caprinos e eqüinos.** 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

RIBEIRO, V. L. S. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.147, p.199-203, 2007.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Interações Revista Internacional do Desenvolvimento Local**. v.1, n.2, p.43-50, 2001.

SABATINI, G. A.; KEMP, D. H. HUGLES, S.; NARI, A.; HANSER, J. Test to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cathe the *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.53-62, 2001.

SAUERESSIG, T. M. Testes in vitro com extratos de plantas para controle alternativo do carrapato do boi. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro. Anais 2002.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.2168-2174, 1990.

SENG, S.; RODRIGUEZ, L. The effects of short-term feeding of fresh caassava (*Manihot esculenta*) foliage on gastrointestinal nematode parasite infections in goats in Cambodia. **Tropical Biomedicine**, v.24, n.1, p.47-54, 2007.

SIMÕES, C. M. de O.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC, 1999. p.397-425.

SOUZA, A. P. de; VENDRAMIM, J. D. Avaliação "in vitro" da eficácia de fitoterápicos em teleóginas de *Boophilus microplus*. **Anais do XI Ciclo de Atualização em Medicina Veterinária**. Lages: CAV/UEDESC, p.127, 2004.

SOUZA, L. A. D. de; SOARES, S. F.; PIRES JÚNIOR, H. B.; FERRI, P. H.; BORGES, L. M. F. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Boophilus microplus* em bovino. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17. n.1, p.36-40, 2008.

SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; ARAÚJO, G. M. B.; SANTOS, V. D.; NETO, A. B. S.; Coelho, M. C. O. C.; MARINHO, M. L. Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.3, p.1-5, 2007.

SRIVASTAVA, R.; GHOSH, S.; MANDAL, D. B.; AZHAHIANAMBI, P.; SINGHAL, P. S.; PANDEY, N. N.; SWARUP, D. Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v. 104, p.149-153, 2008.

SUTHERST R. W. Variation in the numbers of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini), in a moist habitat made marginal by low temperatures. **Australian Journal of Entomology**. v.22, p.1-5, 1983.

TATCHELL, R. J. Interaction between ticks and their hosts. **International Journal of Parasitology**, v.17, n.2, p.597-605, 1987.

Tainter, D. P.; Grenis, A.T. Especies y aromatizantes alimentarios. Zaragoza: Acribia S.A., 1993.

TROGTOKIT, Y.; RONGSRIYAM Y.; KOMALAMISRA N.; APIWATHNASORN C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**. v.19, n.4, p.303-309, 2005.

TSAO, R; YU, Q. Nematicidal activity of monoterpenoid compounds against economically important nematodes in agriculture. **Jornal of Essential Oil Research**, v.12, n.3, p. 350-354, 2000.

UILENBERG, G. Integrated control of tropical animal parasitoses. **Tropical Animal Health and Production**, v.28, p.257- 265. 1996.

VALENTE M.; BARROCO A.; VILAROEL, A.B.S. Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p. 1341-1343, 2007.

VERÍSSIMO, C. J. **Controle de carrapatos dos bovinos**. Jaboticabal - SP: FUNEP, 1993. 26p.

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

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26 n. 3, p.390-400, 2003.

WILLADSEN, P.; BIRD, P.; COBON, G. S.; HUNGERFORD, J. Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. **Parasitology**, v.110, p.43-50, 1995.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos científicos sobre a utilização de princípios ativos isolados e do óleo essencial de cravo-da-Índia são escassos.

A redução nos custos de produção e o desenvolvimento da resistência aos diferentes carrapaticidas encontrados no mercado têm sido as principais justificativas para a utilização de fitoterápicos.

Diante dos resultados obtidos nos diferentes compostos testados, observou-se que o óleo de cravo foi eficiente no controle do carrapato *Richicephalus (Boophilus) microplus*.

A manipueira e o neem apresentam efeito sobre o controle do carrapato de bovino. Entretanto, os compostos contendo menores diluições demonstraram maior eficácia. Em contrapartida, nas diluições mais baixas, observou-se pouca ou nenhuma atividade carrapaticida dos compostos.

O óleo essencial de Craveiro-da-Índia, sendo uma planta conhecida e amplamente distribuída em diferentes regiões do Brasil, pode ser uma alternativa de controle do *Richicephalus (Boophilus) microplus*.

Nesse contexto, novas pesquisas deverão ser desenvolvidas visando uma avaliar outros solventes, concentrações e melhor época de colheita, influência dos fatores ambientais, para uma avaliação mais aprofundada dos efeitos dos compostos utilizados nesse trabalho no controle do carrapato de bovino, visando perspectivas futuras para outros tipos de trabalhos sobre a avaliação *in vitro* e *in vivo* com estas plantas.